

ANNEE 2006

THESE : 2006 – TOU 3 – 4041

EFFET DE LA FRÉQUENCE DE DISTRIBUTION DE L'ALIMENT SUR L'INGESTION, LE COMPORTEMENT D'INGESTION ET LA FERMENTATION RUMINALE CHEZ DES GÉNISSES EN ENGRAISSEMENT INTENSIF

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement en 2006
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Vincent, Rémy, Erna ROBLES
Né, le 15 avril 1980 à MAZAMET (Tarn)

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur Francis ENJALBERT

JURY

PRESIDENT :
M. Henri DABERNAT

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSEESSEUR :
M. Francis ENJALBERT
Mme Nathalie PRIYMENKO

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

A notre président de thèse

Monsieur le Professeur Henri DABERNAT

Professeur des Universités

Praticien hospitalier

Bactériologie – Virologie

Qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de thèse.

Hommages respectueux.

A notre jury de thèse

Monsieur le Docteur Francis ENJALBERT

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Alimentation

Qui nous a guidé et aidé dans l'élaboration de ce travail.

Sincères remerciements.

Madame le Docteur Nathalie PRIYMENKO

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Alimentation

Qui nous a fait le plaisir de participer à notre jury de thèse.

Sincères remerciements.

A Alfred Ferret, Professeur au Departament de Ciència Animal i dels Aliments de la facultat veterinària de Barcelona qui m'a proposé ce projet, qui a été là tout au long de son déroulement et l'a dirigé admirablement.

A l'ensemble des membres du Departament de Ciència Animal i dels Aliments pour leur accueil chaleureux, avec une pensée particulière pour Luciano et Aina pour leur aide précieuse et avec une pensée toute particulière pour Marta per l'any passat alla i pels propers.

A mes parents.

A ma sœur.

A mes grands-parents.

A mes amis.

SOMMAIRE

INTRODUCTION

9

PARTIE 1- RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I	Fermentation ruminale, aspects microbiologiques et métaboliques	13
1.	<u>Ecosystème ruminal</u>	14
1.1	Flore et faune	14
<i>1.1.1</i>	<i>Les bactéries</i>	14
<i>1.1.2</i>	<i>Les protozoaires</i>	15
<i>1.1.3</i>	<i>Les champignons</i>	16
1.2	Interactions entre espèces microbiennes dans le rumen	16
1.3	Conditions physico-chimiques du rumen	17
<i>1.3.1</i>	<i>La température</i>	18
<i>1.3.2</i>	<i>L'humidité</i>	18
<i>1.3.3</i>	<i>La pression osmotique</i>	18
<i>1.3.4</i>	<i>L'anaérobiose</i>	18
<i>1.3.5</i>	<i>Le pH</i>	19
<i>1.3.6</i>	<i>La nature du substrat alimentaire</i>	19
2.	<u>Les mécanismes fermentaires du rumen</u>	20
2.1	Le métabolisme glucidique dans le rumen	20
2.2	Le métabolisme protidique dans le rumen	22
2.3	Le métabolisme lipidique dans le rumen	23
II	Production de viande bovine en Espagne, cadre européen et particularités	25
1.	<u>Population et Production européenne</u>	25
2.	<u>Commerce international</u>	27
3.	<u>Spécificités de la production Espagnole</u>	27

III	L'acidose lactique du rumen	31
1.	<u>Définition</u>	31
2.	<u>Etiologie</u>	32
3.	<u>Pathogénie</u>	34
4.	<u>Prévention de l'acidose, additifs et méthodes</u>	35
4.1	Probiotiques	35
4.2	Bactéries utilisatrices d'acide lactique	35
4.3	Acides carboxyliques	35
4.4	Ionophores	36
4.5	Vaccins	36
4.6	Anticorps	36
4.7	Sels	37
4.8	Tampons	37
4.9	Conduite de l'alimentation, moment et fréquence des repas	37

<p>PARTIE 2- ÉTUDE EXPÉRIMENTALE</p>
--

I	Matériel et méthodes	41
1.	<u>Animaux</u>	41
2.	<u>Modèle expérimental</u>	41
3.	<u>Locaux et installations</u>	42
4.	<u>Alimentation et conduite</u>	42
5.	<u>Recueil de données, prélèvements et analyses</u>	44
5.1	Paramètres productifs : croissance et ingestion	44
5.2	Paramètres ruminiaux	45
5.3	Comportement animal	46
5.4	Analyses statistiques	48

II	Résultats et discussion	51
1.	<u>Ingestion et consommation d'eau</u>	51
2.	<u>Paramètres ruminiaux</u>	52
2.1	pH	52
2.2	Produits de la fermentation ruminale	54
2.2.1	<i>Azote ammoniacal</i>	55
2.2.2	<i>Acides gras volatils</i>	55
3.	<u>Comportement animal</u>	57
3.1	Proportions des différentes activités et positions sur la journée	57
3.2	« Manger »	58
3.2.1	<i>Evolution quotidienne</i>	59
3.2.2	<i>Comparaison entre les deux moitiés de la journée</i>	61
3.3	« Ruminer »	63
3.3.1	<i>Evolution quotidienne:</i>	63
3.3.2	<i>Comparaison entre les deux moitiés de la journée</i>	63
3.4	« Se reposer »	64
3.4.1	<i>Evolution quotidienne :</i>	64
3.4.2	<i>Comparaison entre les deux moitiés de la journée :</i>	64
III	Discussion générale	67
IV	Conclusion	69

<h2 style="text-align: center;">BIBLIOGRAPHIE</h2>
--

INTRODUCTION

Le rumen des bovins est une de chambre de fermentation anaérobie qui permet, grâce une symbiose microbienne, d'utiliser la cellulose - glucide le plus abondant du monde - pour former (via divers processus métaboliques) des protéines de haute qualité. Les bovins jouent donc un rôle particulièrement important de transformateur de cette matière première inutilisable par l'homme dans les régions défavorisées.

Cependant, bien que bénéfice majeur de la fermentation ruminale, la dégradation de la cellulose est devenue secondaire dans les pays de plus grande productivité où l'on a commencé après la seconde guerre mondiale à inclure des céréales (source d'énergie bon marché) en grande quantité dans la ration des bovins, dans un souci de productivité, afin d'obtenir des vitesses de croissance plus importantes et de s'affranchir du pâturage (d'où l'apparition de nouveaux modèles zootechniques de type hors-sol).

Après avoir rappelé les caractéristiques microbiologiques et métaboliques du rumen nécessaires à la compréhension du reste du développement, sera envisagée la spécificité de l'Espagne en matière de production de viande bovine: il s'agit d'un système d'engraissement intensif, hors-sol, d'animaux jeunes (moins d'1 an) alimentés dès un sevrage précoce à base de concentrés riches en céréales.

Enfin, après avoir décrit le phénomène d'acidose lactique, maladie inhérente à ce système de production, nous considérerons dans la partie expérimentale de ce travail les effets que peut avoir la fréquence d'alimentation sur l'ingestion, les fermentations ruminales et le comportement animal, l'hypothèse étant que l'augmentation de la fréquence d'alimentation éviterait les ingestions élevées consécutives à la distribution d'aliment et par conséquent les chutes de pH trop importantes, diminuant ainsi le risque d'acidose.

PARTIE 1-

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I Fermentation ruminale, aspects microbiologiques et métaboliques :

L'ensemble réseau-rumen héberge une micro-population symbiotique qui intervient entre les processus d'ingestion et ceux de digestion qui auront lieu par la suite dans la caillette et l'intestin. Ainsi « le ruminant ne digère pas ce qu'il ingère ». La micro-population exerce en même temps des actions cataboliques et anaboliques. Elle permet l'utilisation de substrats alimentaires qui, sans cela, seraient indigestibles (cellulose). Elle produit des nutriments dont la présence ne sera donc pas obligatoire dans l'alimentation du ruminant (acides aminés essentiels, vitamines hydrosolubles).

Le ruminant et la micro-population sont dans une large mesure adaptés l'un à l'autre. Les micro-organismes certes ne se multiplient dans le rumen que pour leur propre compte. Leur hôte leur apporte les conditions physicochimiques favorables à leur sélection et à leur prolifération. Il assure aussi le retrait (par l'absorption pariétale et le flux ruminal) des produits terminaux de leur métabolisme, dont l'accumulation viendrait sans cela bloquer les réactions chimiques et la multiplication bactérienne. De ce fait le rumen est un dispositif de fermentation en continu. Le ruminant est d'autre part étroitement adapté à la récupération des produits du métabolisme microbien et à leur utilisation pour assurer la couverture de ses besoins d'entretien et de ses productions.

Suite à l'ingestion les aliments séjournent longtemps (plus de 10 heures) dans le rumen. Ce long séjour permet, parallèlement aux réactions de digestion chimique, l'imbibition et la désagrégation des éléments de ligno-cellulose qui sont la base des rations traditionnelles. Le transit du réseau vers l'ensemble feuillet-caillette n'intéresse que les fines particules du fait de la taille réduite de l'orifice réticulo-omasal et parce que la stimulation mécanique de ce sphincter par les aliments grossiers entraîne sa fermeture.

1. Ecosystème Ruminal :

(Gouet, 1986)

1.1 Flore et faune :

La micro-population du rumen se caractérise par sa très grande densité et son extrême diversité car l'on y trouve à la fois de nombreuses espèces bactériennes, des protozoaires et des champignons.

L'action des micro-organismes revêt une importance toute particulière puisqu'ils sont les premiers à dégrader les aliments dans le rumen précédant ainsi l'action des enzymes digestives de l'hôte. La micro-population ruminale dégrade 60 à 90 % des aliments digestibles et assure notamment la transformation des polysaccharides pariétaux des végétaux en composés assimilables par l'animal.

Le rumen d'un adulte contient environ 10^{10} cellules bactériennes et 10^6 protozoaires par millilitre auxquels il faut ajouter des champignons et des levures.

1.1.1 Les bactéries :

Les bactéries constituent environ 50 % de la biomasse microbienne et représentent la catégorie de micro-organismes la mieux connue. Elle est composée essentiellement de bactéries anaérobies strictes non sporulées et elle est caractérisée par sa très grande diversité. 39 genres et 63 espèces ont été décrites et actuellement plus de 200 espèces bactériennes ont été isolées, mais seulement une trentaine peuvent être considérées comme autochtones, les autres étant présentes de manière transitoire. Les espèces sont généralement classées selon les substrats qu'elles fermentent ou dégradent, et leurs fonctions peuvent être limitées ou au contraire larges, se superposer à d'autres de sorte que la régression d'une espèce ne déprimera pas l'ensemble des fermentations et l'efficacité du rumen sera maintenue.

Les espèces de bactéries les plus importantes appartiennent au groupe des cellulolytiques (ou encore fibrolytiques) qui comprennent principalement *Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Butyrivibrio fibrisolvens*. Leur présence et leur activité dépendent d'un ensemble très vaste d'autres micro-organismes indispensables dont l'importance ne peut être hiérarchisée. La plupart des cellulolytiques sont capables aussi de dégrader les héli-celluloses en compagnie de souches plus spécifiquement adaptées.

Une dizaine d'espèces sont connues pour leur pouvoir amylolytique mais *B. amylophilus*, *Succinimonas amylolytica* et *Streptococcus bovis* sont les plus importantes.

Les mono et disaccharides sont fermentés par la plupart des bactéries du rumen.

La protéolyse est aussi une fonction bactérienne très active, les désaminations étant réalisées par *Bacteroides ruminicola* et par *Megasphaera elsdenii*, l'urée hydrolysée en ammoniac par les uréases de plusieurs espèces bactériennes.

La lipolyse enfin, est assurée en grande partie par *Anaerovibrio lipolytica*.

La métabolisation des sucres simples par les bactéries du rumen entraîne une importante production d'électrons et de protons, ou d'hydrogène, dont l'accumulation est préjudiciable à la réaction. Les bactéries méthanogènes dont la principale espèce est *Methanobacterium ruminantium* sont donc particulièrement importantes car elles piègent cet hydrogène en le fixant sur du gaz carbonique pour donner du méthane.

Ainsi les produits terminaux de la fermentation des aliments dans le rumen sont le résultat d'interactions complexes qui mettent successivement ou simultanément en jeu :

- des populations hydrolysant les polymères pariétaux
- des populations fermentant les glucides solubles qui proviennent de l'aliment ou de la dégradation des polymères pariétaux par le premier groupe
- des populations qui utilisent des acides organiques (succinique, formique, lactique) produits par les espèces précédentes.
- des bactéries méthanogènes qui utilisent l'hydrogène et l'acide formique produits par les autres espèces pour la formation du méthane.

75 % des bactéries sont associées à des particules de l'aliment. Ce sont elles qui, en grande partie, sont responsables de la dégradation ruminale des aliments (Ørskov, 1992). Un second groupe moins spécifique est associé à la phase liquide (bactéries dissociées, population à haut rythme de division). Enfin le troisième groupe est constitué de bactéries anaérobies facultatives adhérentes à l'épithélium du rumen qui consomment rapidement l'oxygène qui entre avec les aliments et l'eau.

1.1.2 Les protozoaires :

Les protozoaires du rumen sont essentiellement des ciliés dont la biomasse peut, avec certains régimes, égaler celle des bactéries.

5 à 6 genres différents, *Epidinium*, *Entodinium*, *Diplodinium*, *Isotricha*, *Ophryscolex* et *Polyplastron* sont généralement présents simultanément, mais les associations rencontrées sont très variées.

Si leur importance vis-à-vis de l'hôte est controversée dans la mesure où ils ne sont pas indispensables à la digestion, ils fournissent en revanche de nombreux exemples d'interactions entre eux ou avec les bactéries. Les genres *Epidinium*, *Entodinium* et *Polyplastron* sont capables d'ingérer des débris végétaux et de digérer leur composants y compris la cellulose, les hémicelluloses et les substances pectiques. En outre, la plupart des protozoaires ingèrent des bactéries dont les protéines sont dégradées et les acides aminés incorporés aux protéines du protozoaire ; ils sont activement protéolytiques mais n'utilisent pas l'ammoniac.

1.1.3 Les champignons :

Contrairement aux bactéries et aux protozoaires, les champignons n'ont donné lieu qu'à très peu de travaux.

Leur caractère anaérobie obligatoire est tout à fait exceptionnel dans le groupe des champignons.

Leur activité hydrolytique à l'égard des constituants pariétaux des végétaux a été démontrée in vitro et elle s'accompagne d'une réduction de la taille des particules alimentaires, suggérant que ces champignons doivent jouer un rôle déterminant in vivo.

On décrit essentiellement trois espèces qui sont *Neocallimastix frontalis*, *Piromonas communis* et *Sphaeromonas communis*.

1.2 Interactions entre espèces microbiennes dans le rumen :

On peut observer dans le rumen, simultanément, la plupart des phénomènes d'interaction entre organismes biologiques connus : compétition pour le substrat, commensalisme, mutualisme, amensalisme, et même prédation des bactéries par les protozoaires ciliés.

La croissance relative des populations du rumen dépend de ces interactions qui sont elles-mêmes contrôlées par les facteurs du milieu et les caractéristiques physiologiques des microorganismes.

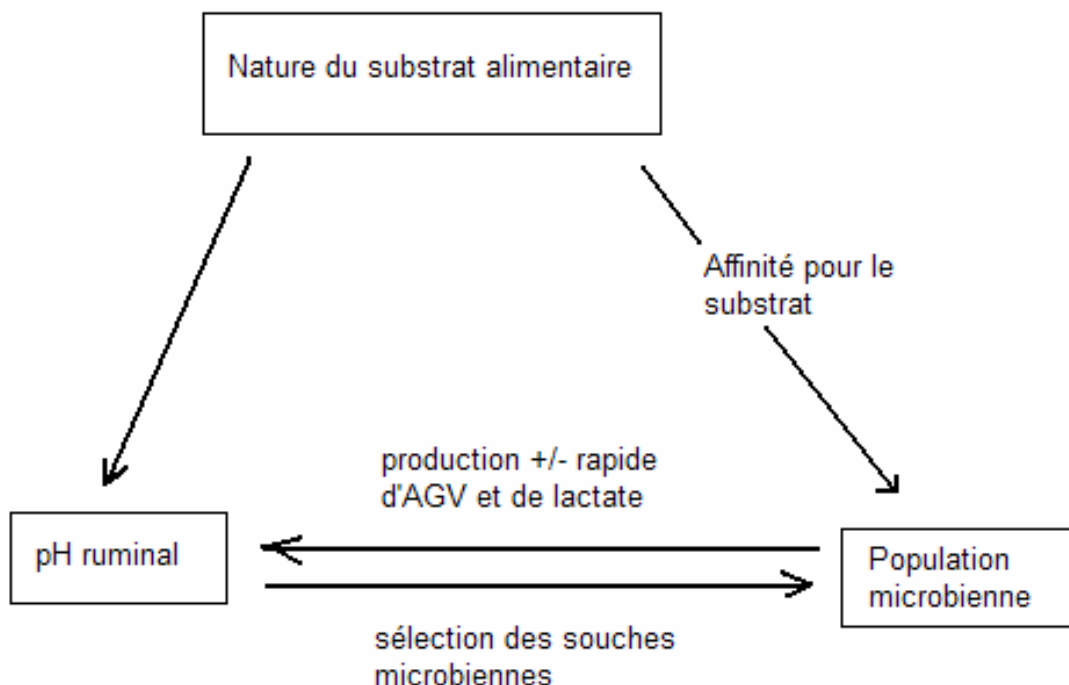
Parmi tous les mécanismes susceptibles d'expliquer l'équilibre observé entre toutes ces populations, la compétition pour un substrat limitant est peut-être le plus important. La

domination d'une espèce sur les autres dépendra de ses besoins en énergie, azote et nutriments essentiels ainsi que leur disponibilité dans le milieu et du pH. Des populations microbiennes en compétition pourront donc coexister aussi longtemps que des substrats limitant différents seront présents, chacun d'eux favorisant l'espèce ou la souche qui l'utilise le plus efficacement.

1.3 Conditions physico-chimiques du rumen :

Le développement des micro-organismes du rumen est directement dépendant des conditions physicochimiques du milieu. Ainsi, si la température, l'humidité, la pression osmotique et l'anaérobiose sont des conditions relativement fixes, le pH et la nature du substrat alimentaire varient et constituent donc des facteurs de sélection des populations microbiennes (**Figure 1**)

Figure 1- Facteurs de sélection des micro-organismes du rumen (d'après Brugere-Picoux, 1983) :



1.3.1 La température :

Elle est plus élevée d'au moins un degré par rapport à la température du reste du corps : soit 39,5 à 40°C. Elle peut atteindre 41°C lorsque les fermentations sont très intenses, mais aussi chuter de plusieurs degrés après ingestion d'une grande quantité d'eau froide : de 5 à 10°C pour une à deux heures (Brugere, 1983).

1.3.2 L'humidité :

(Brugere, 1983)

Elle est en moyenne élevée : 85 % mais non homogène dans l'ensemble du rumen. La partie supérieure contient les éléments les plus grossiers, la partie inférieure les particules de petite taille baignant dans un milieu très liquide.

L'eau du rumen représente une masse liquidienne plus importante en quantité que l'eau plasmatique et elle peut être utilisée, le cas échéant, comme réserve pour l'organisme.

L'imbibition et la désagrégation progressive des particules alimentaires s'effectuent à la faveur des contractions régulières de la paroi ruminale et des cycles méryciques.

Les apports hydriques sont assurés par l'eau ingérée et par une intense salivation. Un bovin adulte secrète 100 à 200 l de salive par jour, en fonction de la fibrosité de la ration : la consommation d'aliments grossiers stimule cette sécrétion.

1.3.3 La pression osmotique :

De l'ordre de grandeur de celle du sang, elle varie dans une plus large gamme de 200 à 400 mosm/l.

Sa modification expérimentale a pu être mise à profit pour favoriser la digestion des rations : l'ingestion quotidienne d'environ un kg de sel pour un bovin adulte est suivie d'une dilution des matériaux, et d'une réduction de leur temps de séjour dans le rumen (Brugere, 1983).

1.3.4 L'anaérobiose :

(Brugere, 1983)

Le milieu ruminal est du fait de l'anaérobiose très réducteur et le métabolisme des micro-organismes qu'il héberge donne donc lieu à des fermentations qui entraînent la libération de

composés organiques (acétate, propionate, butyrate, lactate...) et non pas seulement de gaz carbonique et d'eau.

Les apports d'oxygène sont faibles (déglutition, diffusion à partir des vaisseaux des parois). Des souches de bactéries aérobies facultatives le font disparaître, de sorte que l'O₂ représente moins de 1% des gaz du sac dorsal.

La teneur en CO₂ est toujours élevée (60% de la poche des gaz). La majeure partie est éliminée par éructation. Une partie est incorporée dans divers métabolismes bactériens.

1.3.5 *Le pH*

(Brugere, 1983)

Le pH a un rôle prédominant dans la sélection des microorganismes du rumen et dans l'orientation des fermentations.

Les éléments responsables du pH sont :

- pour les acides, les AGV et le lactate issus des fermentations glucidiques
- pour les bases, l'ammoniac issu de la protéolyse ou de l'uréolyse microbienne, ainsi que les bicarbonates et les phosphates salivaires.

Dans les conditions normales, le pH est toujours acide, proche de la neutralité : 6 à 6,8

Les protozoaires sont éliminés rapidement lors d'une baisse de pH et disparaissent totalement pour des valeurs de pH inférieures à 5-5,5.

Les bactéries cellulolytiques ont un développement maximum pour des valeurs légèrement acides : $6,2 < \text{pH} < 6,8$. Les bactéries amylolytiques, à l'inverse, se développent à la faveur de pH franchement acides ($\text{pH} < 5,5$).

1.3.6 *La nature du substrat alimentaire :*

La ration est le facteur primordial agissant sur le type et les proportions de populations microbiennes puisqu'elle détermine le profil de fermentation ruminale (Yokohoma et Johnson, 1988). Les différences sont maximales entre une ration fourragère et une ration riche en concentré. La première favorise l'établissement d'une flore fibrolytique, où prédominent des bactéries du genre *Butyrivibrio* spp. En revanche, avec une ration riche en concentrés sont favorisées les populations amylolytiques. Ce type d'alimentation est associé à des vitesses élevées de digestion et de production d'acides, provoquant l'acidification du milieu et la réduction des populations cellulolytiques et méthanogènes qui sont les plus sensibles aux pH acides (Van Soest, 1982).

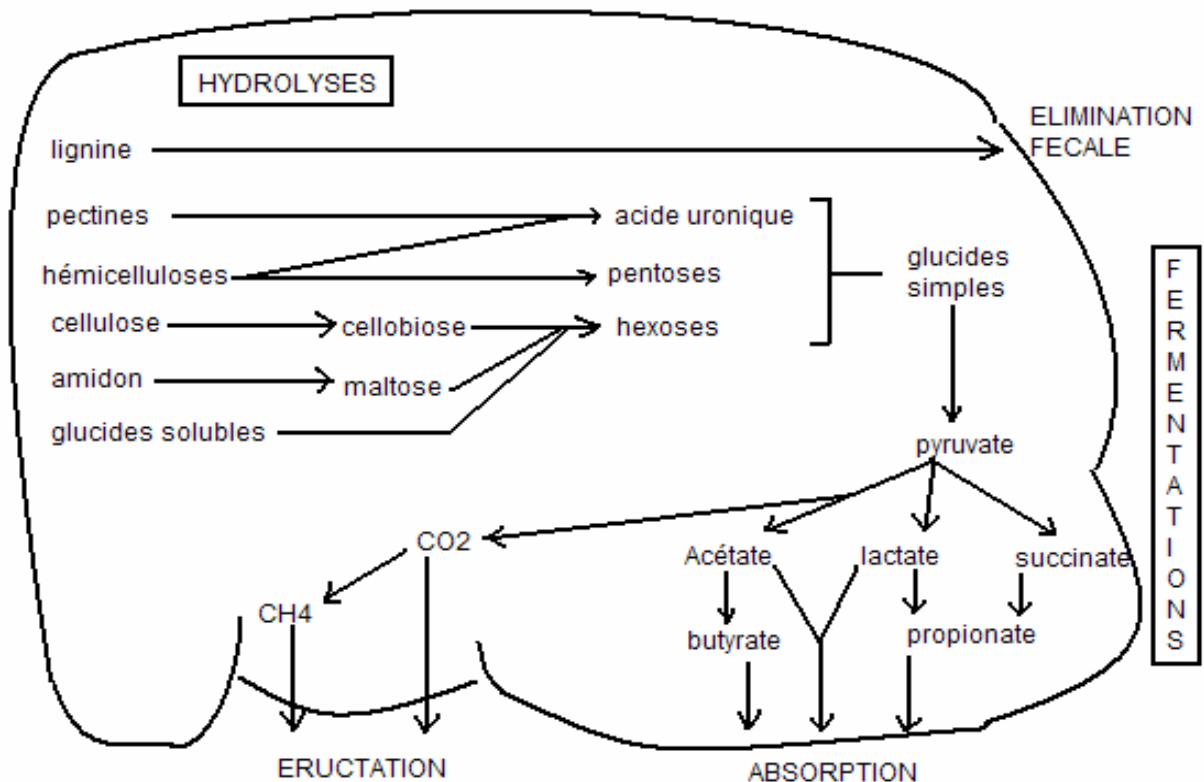
2. Les mécanismes fermentaires du rumen :

2.1 Le métabolisme glucidique dans le rumen :

(Brugere, 1983)

Les glucides représentent en moyenne 75% de la matière sèche ingérée. Leur digestion par les micro-organismes peut se décomposer en deux étapes : une hydrolyse des polyholosides en glucides simples qui sont ensuite fermentés (**Figure 2**). L'énergie ainsi dégagée pourra être utilisée pour les synthèses bactériennes.

Figure 2- Le métabolisme glucidique du rumen (d'après Gaste, 1988):



Les sucres solubles (oses en C5 et C6 et les diholosides) sont dégradés rapidement en CO₂ et acides gras volatils (AGV) avec libération d'énergie. Après l'ingestion la dégradation est très rapide et approche les 100%. Les AGV sont alors produits dans la proportion d'environ :

- 30 % d'acétate (C2)
- 40 % de propionate (C3)
- 20 % de butyrate (C4)
- 10 % de valérate (C5)

L'amidon est lui aussi facilement hydrolysé. Il donne des dextrines et du maltose, pour aboutir à un mélange d'AGV où le propionate est prépondérant ; 40 à 90% de l'amidon sont ainsi dégradés dans le rumen, la proportion est d'autant plus grande que l'apport est faible. Si la ration contient beaucoup d'amidon, la fraction qui aura échappé au rumen sera dégradée dans l'intestin grêle (amylase pancréatique) et dans le gros intestin (micro-organismes du colon).

L'hydrolyse de la cellulose conduit surtout à un dimère : le cellobiose qui sera ensuite fermenté pour donner des AGV parmi lesquels l'acétate occupe la première place :

- C2 = 60 %
- C3 = 25 %
- C4 = 15 %

La digestion microbienne des glucides aboutit donc à la formation de :

- gaz (CO₂ / CH₄)
- d'AGV en C2, C3, C4 et C5 ainsi que de lactate dont les proportions varient selon le type d'aliment ingéré.

Un régime riche en cellulose aboutit à la formation prédominante d'acétate alors qu'avec un régime riche en amidon la formation de propionate augmente.

Les AGV sont rapidement absorbés par la muqueuse ruminale et captés par la circulation portale. Cette absorption est proportionnelle à leur concentration ruminale.

- l'acétate n'est que peu ou pas modifié par les hépatocytes. Il est utilisé par les cellules de l'organisme principalement au niveau des muscles comme substrat énergétique. Il intervient aussi dans la synthèse des triglycérides et joue ainsi un rôle fondamental dans le

dépôt des graisses du tissu adipeux et la synthèse des acides gras à courte et moyenne chaîne exportés dans le lait.

- le propionate sert essentiellement à la synthèse hépatique du glucose.

- le butyrate représente en général un faible pourcentage total des AGV produits dans le rumen. La majeure partie est transformée en corps cétoniques par la paroi ruminale ; ceux-ci constituent le substrat énergétique préférentiel des muscles cardiaques et squelettiques.

Dans les conditions normales le lactate constitue un intermédiaire des fermentations ruminales. Il est en partie utilisé par les bactéries lactolytiques du rumen, une faible partie étant absorbée par la muqueuse ruminale. Le lactate est alors métabolisé par les hépatocytes en participant à la néoglucogénèse.

2.2 Le métabolisme protidique dans le rumen :

(Brugere, 1983)

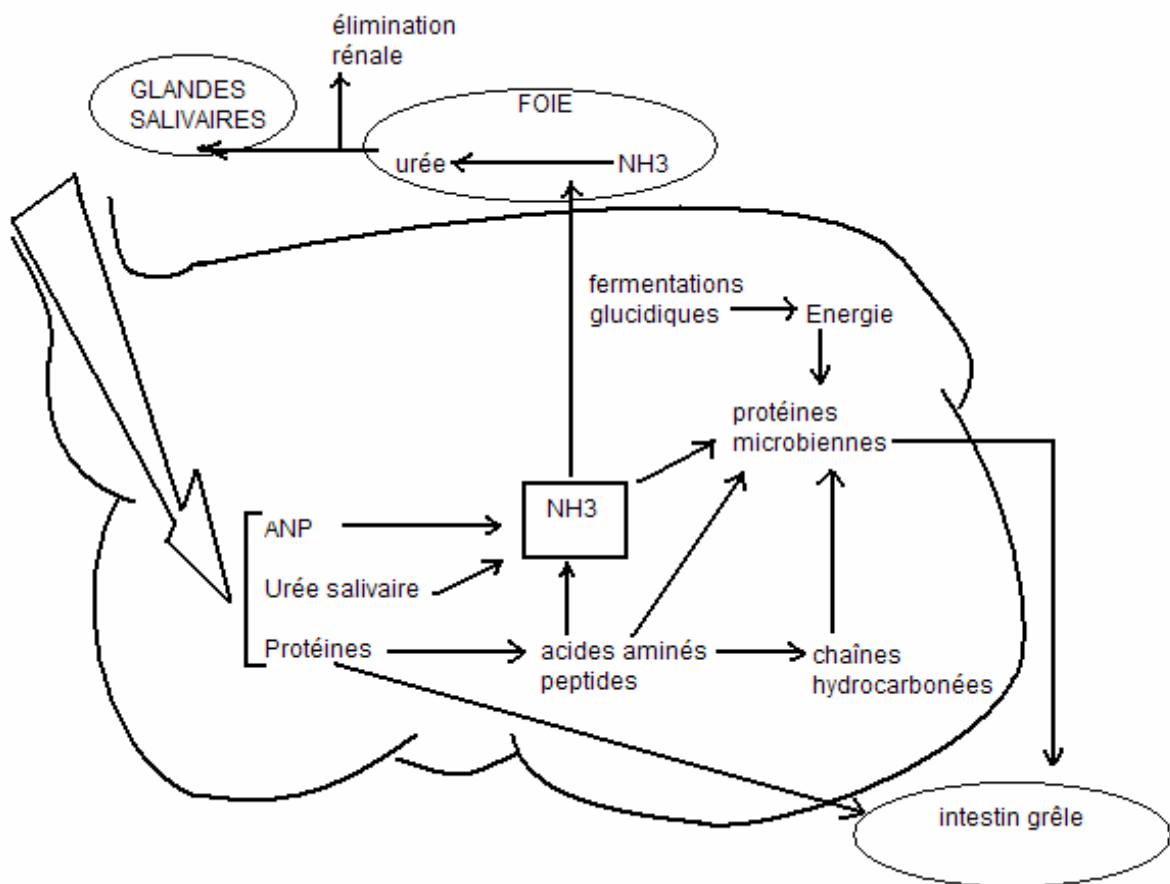
Tout comme les glucides, les protéines subissent de profonds remaniements dans le rumen dont l'intensité dépend de leurs propriétés physicochimiques et en premier lieu de leur solubilité. Les protéines solubles sont entièrement remaniées alors que les protéines insolubles ne le sont que partiellement.

L'hydrolyse des protéines est rapide et aboutit à la libération de petits peptides et d'acides aminés dans le rumen (**Figure 3**). La désamination des acides aminés est pratiquement synchrone de l'hydrolyse protéique et entraîne la formation rapide d'ammoniac et de chaînes hydrocarbonées.

Ces différents éléments (acides aminés, NH_3 et chaînes hydrocarbonées) sont utilisés par les micro-organismes pour leurs propres synthèses protéiques.

L'ammoniac est un intermédiaire normal du métabolisme ruminal. Il est donc possible d'inclure dans la ration de l'azote non protéique (de faible coût comme l'urée) à condition d'apporter aux micro-organismes un supplément d'énergie sous forme facilement utilisable, c'est-à-dire des glucides facilement fermentescibles.

Figure 3- Métabolisme protidique du rumen (d'après Gaste, 1988) :



2.3 Le métabolisme lipidique dans le rumen :

(Gaste, 1988)

Les lipides ne représentent qu'une fraction minime de la ration (2 à 5% de la matière sèche). Ils sont essentiellement composés de glycolipides à longue chaîne (C18-C20).

Leur hydrolyse libère les acides gras et le glycérol.

Les acides gras, étant donné le fort pouvoir réducteur du milieu ruminal, subissent une hydrogénation presque complète. Le glycérol est converti principalement en pyruvate qui est fermenté.

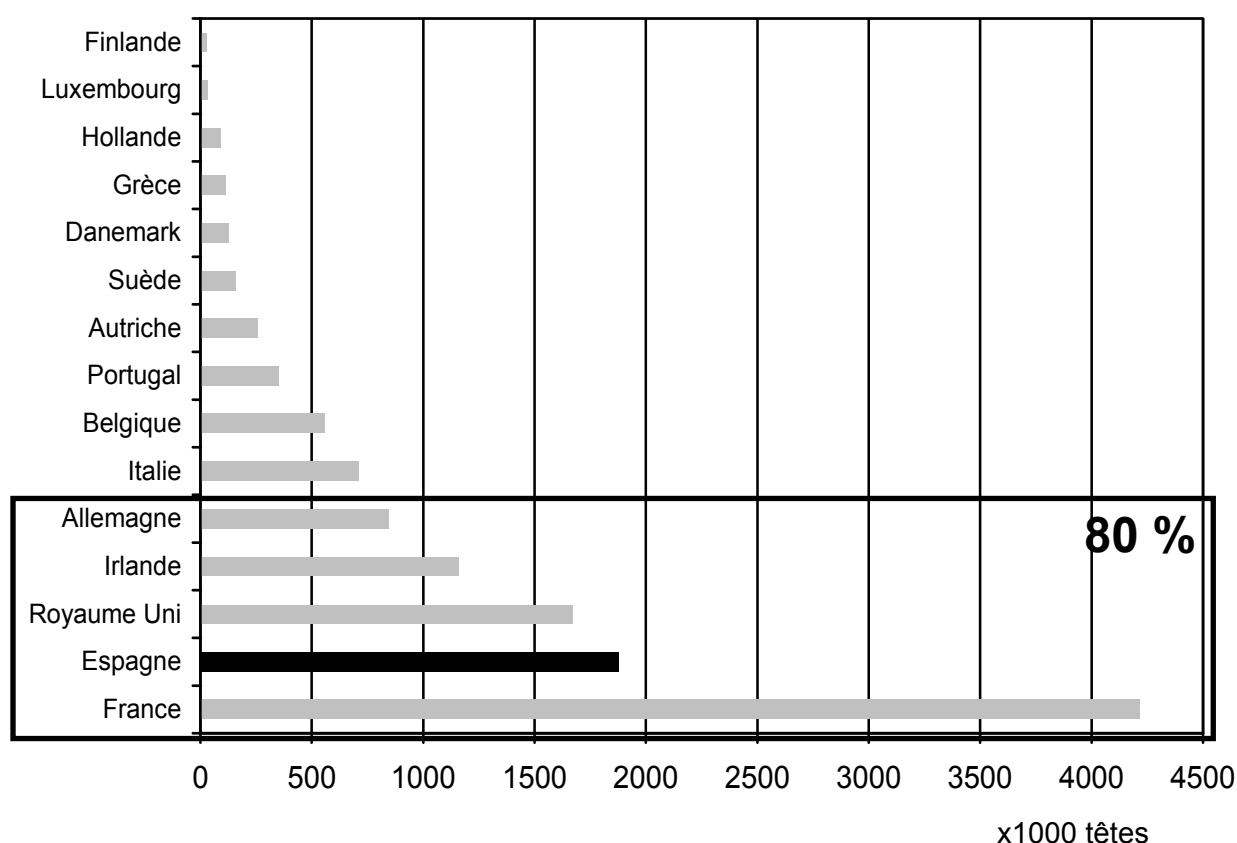
II Production de viande bovine en Espagne, cadre européen et particularités :

La production de viande bovine doit être envisagée dans un contexte international, du fait des nombreuses et complexes interactions qui existent entre les marchés et ses composants. Dans le cas de l'Espagne, ce cadre correspond à l'union européenne, ses pays membres et les relations qu'elle peut avoir avec ces derniers. Toutefois, l'Espagne présente une série de caractéristiques bien différenciées du reste de l'Europe quant à son système de production et à la viande produite.

1. Population et Production européenne :

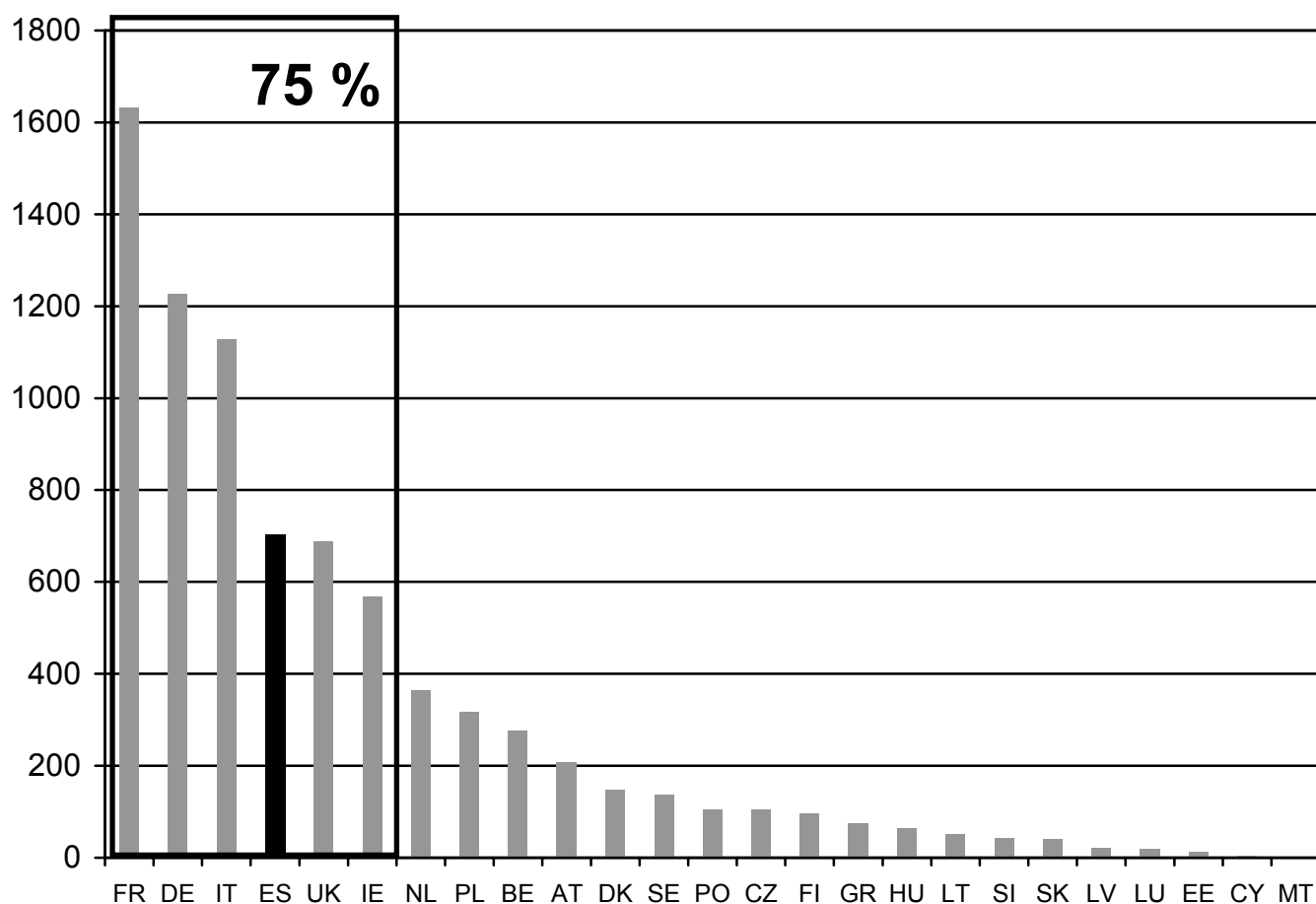
On peut noter sur la **Figure 4** que 80 % de la population de vaches allaitantes est concentrée dans 5 pays différents : La France (largement en tête), l'Espagne en seconde position, le Royaume-Uni, l'Irlande et l'Allemagne. En outre l'Espagne est l'unique pays où la population de vaches allaitantes est supérieure à celle de vaches laitières (64% des animaux > 2 ans).

Figure 4- population de vaches allaitantes (> 2 ans) dans l'europe des 15 (FAOSTAT, 2003) :



Dans l'Europe des 25, on constate que 75 % de la viande bovine est produite, dans l'ordre de production, en France, Allemagne, Italie, Espagne, Royaume-Uni et Irlande (**Figure 5**).

Figure 5– Production annuelle de viande bovine dans l'europe des 25 (FAOSTAT, 2003):
x 1000 tonnes



Si l'on observe l'évolution de la production dans les dix dernières années sur le continent européen, on constate que la production a très fortement baissée dans les pays de l'Est. La diminution est générale en l'union européenne des 15 (et la plus marquée en Grande-Bretagne : -25 %), à l'exception de l'Espagne, l'Irlande, et la Suède qui ont vu leur production augmenter. (19 %, 8 % et 5%, respectivement).

2. Commerce international :

Les exportations de l'UE-15 (union européenne des 15) à des pays tiers représentent seulement 5% des exportations mondiales, mais si on y ajoute le marché intracommunautaire on atteint 33%. Dans les dernières années (1996-2002) du fait de changements de la politique européenne, les aides à l'exportation ont diminuées et par conséquent les quantités totales exportées. Le pays le plus exportateur lors de l'année 2000 a été l'Irlande (38% du total des exportations), suivi de l'Allemagne (22%). L'Espagne avec 4,2 % des exportations est en sixième position (Libro Blanco, 2003).

Pour ce qui est des importations, l'UE-15 est avec 7 % en troisième position mondiale (après le Japon et les Etats-Unis), les principaux importateurs étant le Royaume Uni, l'Allemagne et l'Italie.

Au sein de l'union européenne, l'Espagne est passée du statut d'importateur net au statut de pays exportateur à partir du milieu des années 90. Cette évolution est due, entre autre, au développement d'un système d'engraissement technique, compétitif et avec une gestion économique serrée. En 2000, l'Espagne a exporté 20 % de sa production, majoritairement en direction de la France, de l'Italie et du Portugal à l'intérieur de l'UE et à l'extérieur vers la Russie. En ce qui concerne les importations d'animaux vifs, la filière d'animaux jeunes à engraisser provenant de France, Irlande, Allemagne et Pologne est particulièrement active.

D'autre part les exportations d'animaux vifs sont dirigées essentiellement vers l'Italie, pays qui demande des animaux de qualité et de poids élevés.

3. Spécificités de la production Espagnole :

Les caractéristiques propres de l'élevage bovin, associées aux contraintes climatologiques de ce pays, ont conditionné le développement d'un modèle productif spécifique, différent de celui de l'Europe humide où sont fréquentes les exploitations en cycle fermé (naissance, élevage et engraissement sur un même site). En Espagne la naissance et l'engraissement ont lieu dans des exploitations différentes, séparées géographiquement.

Des 3 millions de veaux qui sont engraisés en Espagne, environ 50 % sont des broutards (mâles et femelles) provenant de troupeaux de vaches allaitantes espagnoles. Ces animaux sont élevés avec leur mère dans des conditions extensives jusqu'à 5 ou 6 mois, et sont ensuite engraisés en conditions intensives, à base de concentré et de paille jusqu'à l'abattage, à 1 an.

20 % des veaux d'engraissement proviennent des troupeaux laitiers nationaux (de la « cornisa cantábrica » en particulier) et sont en général des mâles Holstein qui entrent dans les ateliers d'engraissement à environ 3 semaines, qui sont ensuite sevrés à 13 semaines et sont alors engraisés sur le même mode que les précédents jusqu'à 1 an. 23 % des veaux engraisés sont des animaux importés (broutards et veaux de lait) majoritairement de France, Irlande, Allemagne et Pologne. On estime que les 7 % restant sont engraisés dans les exploitations de naissance (MAPA, 2004).

Le système de production de viande bovine en Espagne a donc deux secteurs : celui de la vache allaitante extensif ou système d'élevage qui fournit des veaux, et celui d'engraissement intensif. Bien que très différents et séparés géographiquement, ils sont complémentaires et dépendent l'un de l'autre. En effet, les troupeaux de mères allaitantes sont localisés principalement dans l'ouest de la péninsule et les races utilisées en général autochtones (Avileña, Gallega, Asturiana, Morucha, Pirenaica...) que l'on croise avec des taureaux de meilleure conformation (Charolais ou Limousin). Au contraire, les engraisseurs sont localisés près des grands noyaux urbains de consommation (Madrid et Barcelone) ou des grandes zones céréalières.

Dans les élevages qui produisent les broutards, l'alimentation est basée sur la consommation de fourrages ou de pâtures de l'exploitation elle-même et est complétée ponctuellement. Dans ce secteur, le niveau technique est bas, tant en matière d'alimentation que de reproduction ou de sélection.

A l'opposé, chez les engraisseurs, le système de production est beaucoup plus intensif et hors-sol. L'alimentation est basée sur des concentrés très riches en céréales, le prix de ces derniers étant un des facteurs déterminant dans les coûts de l'exploitation. Dans ce secteur le niveau technologique nécessaire à l'alimentation comme à la conduite des animaux est des plus élevés.

Ce système de production produit une viande appelée « carne rosada » (de couleur rose pâle, très tendre, ayant peu de goût, qui se mange relevée) appréciée en Espagne et dans les pays du sud de l'Europe (Portugal, Italie et Grèce). La consommation nationale moyenne de viande bovine est de 12 kg par habitant et par an, en dessous de la moyenne européenne (20 kg) et en dessous de la moyenne des viandes de porc ou de poulet (FAOSTAT, 2003).

En définitive, l'Espagne a un rôle spécifique au sein de la production européenne et mondiale, avec un système d'engraissement très compétitif, avec une capacité exportatrice et qui est très différent du reste de l'Europe pour ses caractéristiques climatologiques et le type de viande qui se consomme.

Le système de production qui nous intéresse particulièrement dans le cadre de ce travail est celui des ateliers d'engraissement (« cebadores ») qui utilisent des veaux (appelés « mamones ») issus de troupeaux laitiers qui après un sevrage précoce sont engraisés jusqu'à un an avec des rations à base de concentrés riches en céréales.

Les problèmes digestifs dans ce type d'ateliers d'engraissement seraient responsables de 30 % de la mortalité totale. Parmi eux, le problème le plus fréquent est celui de l'acidose lactique du rumen (Bermúdez, 2002). Aux Etats-Unis les désordres digestifs causent entre 30 et 42,2 % de la mortalité en “feedlots”. D'autre part une mortalité plus importante est observée avec des individus de race Holstein (race très utilisée par les ateliers d'engraissement catalans) qu'avec les races allaitantes (Smith, 1998). Ainsi on considère qu'il s'agit de la seconde affection la plus fréquente dont souffrent les animaux en ateliers d'engraissement industriels. Bien que cette affection trouve son origine et siège dans le rumen, elle a une projection clinique sur le reste de l'organisme. Il est donc intéressant de l'envisager pour son importance médicale, mais surtout économique.

III L'acidose lactique du rumen :

1. Définition :

Par définition, l'acidose est une diminution des bases relativement aux acides des fluides corporels (Stedman, 1982 cité par Owens et coll., 1998). Pathologiquement l'acidose est définie comme une acidification du sang (Huntington, 1988). Toutefois, en ce qui nous concerne, et dans le cadre de la production bovine "l'acidose" est un terme utilisé collectivement pour désigner des désordres digestifs du rumen (Owens et coll., 1998). On peut alors parler plus précisément d'acidose du rumen ou acidose lactique du rumen.

Selon Owens et coll. (1998) l'acidose chez les ruminants peut se diviser en trois types:

- **Acidose aiguë ou systémique** : le pH ruminal est inférieur à 5,2 et la concentration de lactate dépasse la plupart du temps les 40mM. Le fait que dans certaines études le pH ruminal baisse en dessous de 5,0 sans accumulation de lactate suggère que celui-ci n'est pas le seul responsable de l'acidose, mais qu'il s'agirait plutôt de la charge de l'ensemble des acides. Quand l'animal tombe en acidose aiguë, il est alors en situation potentiellement mortelle. Le pH du sang est inférieur aux valeurs normales (7,35) car l'absorption ruminale d'acides (principalement l'acide lactique) dépasse la capacité de métabolisation.
- **Acidose chronique ou sub-aiguë** : l'ingestion d'aliment et les paramètres productifs diminuent et/ou sont irréguliers, bien que les animaux ne semblent pas être dans un état pathologique. Le pH ruminal baisse en dessous de 5,6 mais il retrouve des valeurs classiques à chaque cycle d'alimentation. Selon Counotte et coll. (1979), la valeur de pH de 5,5 est particulièrement importante puisque c'est à ce niveau qu'apparaît une augmentation du risque d'acidose lactique aiguë, étant donné que commence à s'accumuler l'acide lactique.

Des conséquences économiques et physiologiques majeures résultent de l'acidose chronique, d'autant plus dans des groupes d'animaux importants où la diminution de

l'ingestion volontaire de matière sèche (IVMS) et du gain de poids vif moyen quotidien (GMQ) des animaux affectés sont masqués jusqu'au moment de l'abattage

- **Sub-acidose:** il s'agit d'une situation dans laquelle il n'y a ni signes cliniques, ni modifications des paramètres productifs car la baisse de pH est transitoire et celui-ci n'atteint pas des valeurs excessivement basses (nocives pour l'animal), bien que certains aspects de la fermentation ruminale puissent être affectés. Ainsi, il est possible de classer ici des situations dans lesquelles sont modifiées la dégradabilité des aliments ingérés et l'efficacité de la synthèse de protéines microbiennes. En effet, à l'occasion d'études in vitro et avec des rations ayant une proportion moyenne à haute de concentré, il a été observé des diminutions linéaires de la dégradabilité ruminale de la matière sèche (MS), de la matière organique (MO) et de la protéine brute (PB) quand le pH d'incubation diminue, ou quand augmente le temps pendant lequel le pH est en dessous des niveaux optimaux. Mais l'effet majeur de la baisse de pH a été observé à propos de la dégradabilité de la NDF (neuter detergent fiber) et de l'ADF (acid detergent fiber) (Cardozo et al., 2002; Calsamiglia et al., 2002; de Veth et Kolver, 2001; Cerrato, 2004).

2. **Etiologie :**

Classiquement, le processus d'acidose est associé à la consommation excessive de glucides non structuraux. Par conséquent, cette maladie est souvent associée à des rations que certains auteurs considèrent comme inadéquates, avec des proportions de concentré volontairement élevées et de basses quantités de fourrages (d'où une fibrosité et une salivation moindres), dans le but d'obtenir des rendements productifs élevés. Lorsque l'apport en glucides non structuraux (et en amidon en particulier) augmente rapidement (lors d'ingestion rapide ou lors des phases d'adaptation à des rations concentrées), la quantité totale d'acides et la proportion de l'acide lactique augmentent (Huntington, 1988).

Le processus d'acidose se déroule selon deux phases principales (Huntington, 1988):

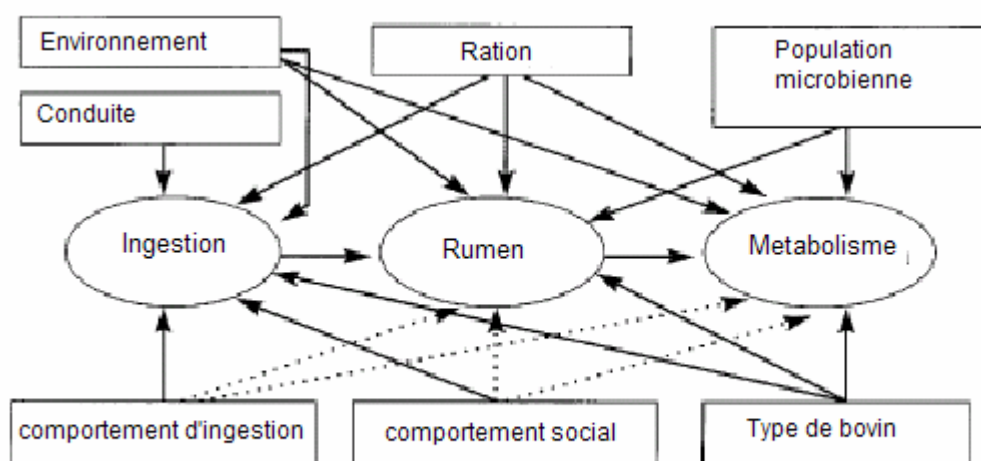
- Une augmentation brutale de l'ingestion de glucides rapidement dégradables, suivie d'une fermentation et rapide production d'acides qui altèrent le profil de la population microbienne : Les bactéries amylolytiques sont favorisées au détriment des

cellulolytiques (dont la population chute), *Fusobacterium necrophorum* et *Streptococcus bovis* prolifèrent produisant de plus en plus d'acide lactique qui commence à s'accumuler dans le rumen et va faire encore baisser le pH (acide présent dans le rumen ayant avec le plus bas $pK_a=3,9$). Toutefois la prédominance des streptocoques reste transitoire : sous un pH de 4,5 cette population diminue au profit des lactobacilles.

- Absorption des acides dans le courant sanguin

Dans l'état actuel des connaissances, on est bien documenté sur la plupart des facteurs en relation avec un pH ruminal bas qui contribuent au processus étiologique de l'acidose. Cependant d'autres ont été peu étudiés et continuent à être peu compris. Galyean et Eng (1998) ont répertorié chez des bovins en engraissement plusieurs facteurs, et les interactions qui les relient, qui peuvent potentiellement provoquer des désordres métaboliques résultats de changements dans le rumen. Ainsi, si certains facteurs comme le type de ration ou la population microbienne sont bien connus, d'autres comme le comportement social (en stabulation) ou le comportement d'ingestion ou encore les diverses interactions entre tous ces facteurs restent peu décrits (**Figure 6**).

Figure 6- Interrelations possibles entre les facteurs affectant l'équilibre ruminal (Galyean et Eng, 1998) : les traits pleins indiquent des relations connues et les trait discontinus des relations hypothétiques :



3. Pathogénie :

En situation d'acidose la pression osmotique du liquide ruminal est supérieure à celle du sang (+ de 400 mOsm contre 300) du fait de l'accumulation d'AGV, d'acide lactique et de glucose, ce qui provoque une entrée d'eau dans le rumen depuis le secteur sanguin. Ceci occasionne des lésions de la muqueuse ruminale qui peuvent être mises en évidence lors de l'abattage : hyperkératose ou parakératose, abcès et/ou ulcères ruminiaux, laminite, par rupture d'artérioles périphériques et consécutivement abcès hépatiques dus au passage de bactéries dans le sang (dont *Fusobacterium necrophorum*). D'autres auteurs attribuent directement au bas pH les dommages de la paroi ruminale (Huntington, 1988).

La paroi ruminale capte les pressions osmotiques élevées du liquide ruminal et inhibe l'ingestion d'aliment (diminution du GMQ) pouvant aller jusqu'à l'anorexie, et la motilité du réticulo rumen diminue, souvent associée à une météorisation (*Streptococcus bovis*, en particulier, produit des polysaccharides qui piègent les gaz de fermentation et contribue ainsi au phénomène de météorisation).

En outre, cette situation "d'hydrorumen" sature la capacité d'absorption d'eau du colon, provoquant de la diarrhée, bien que la diarrhée pourrait être due, dans cette situation, à la production d'entérotoxines par des coliformes et des clostridies (Huber, 1976).

De plus il en résulte une déshydratation et une hémococoncentration qui aggravent encore plus la situation d'acidose systémique.

Cette situation d'acidose peut se compliquer de dyspnée, de nécrose du cortex cérébral et peut dans les cas extrêmes entraîner la mort de l'animal.

Des auteurs tels que Dunn et coll., 1979; Brent, 1976; Elam, 1976; Slyter, 1976; Huber, 1976; Uhart et Carroll, 1967 décrivent ce thème de manière plus détaillée.

4. Prévention de l'acidose, additifs et méthodes :

4.1 Probiotiques :

Ce sont des mélanges de cultures revivifiables de bactéries des genres *Lactobacillus*, *Propionibacterium* et *Enterococcus*. Il a été démontré qu'ils améliorent le GMQ, et l'efficacité de conversion de l'aliment. Bien que les résultats sur le pH ruminal soient peu nombreux et non concluants, il a été démontré une réduction de la population *S. bovis* et une augmentation de celles de protozoaires chez les veaux en engraissement (Ghorbani et coll., 2002; Krehbiel et coll., 2003).

Des levures sont aussi utilisées, les souches qui le sont le plus appartiennent à l'espèce *Saccharomyces cerevisiae*. Elles diminueraient la concentration de L-lactique et augmenteraient le pH ruminal (Williams et coll., 1991). D'autre part, d'autres auteurs ont constaté une augmentation dans la proportion d'acétate une diminution de celle de propionate chez de jeunes bovins (Quigley et coll., 1992).

4.2 Bactéries utilisatrices d'acide lactique :

L'inoculation ou la stimulation de ces micro-organismes, tels que *Megasphaera elsdenii* et *Lactobacillus acidophilus*, devrait diminuer l'accumulation de cet acide dans le rumen, bien qu'il soit difficile de maintenir ces populations actives à long terme (Owens et coll., 1998). Lors d'études in vitro, il a été démontré l'utilisation totale de lactate par *M. elsdenii* pour son entretien, sa croissance et formation de produits, principalement acétate et propionate (Soto-Cruz et coll., 2002).

4.3 Acides carboxyliques :

Principalement le fumarate (McGinn et coll., 2004; Asanuma, 1999) et le malate ont montré qu'ils diminuent la production de lactate et augmentent le pH, probablement par une augmentation de la consommation du lactate par *Selenomonas ruminantium*. Des sels d'AGV

ont aussi été étudiés, principalement acétate et propionate de Na et K, avec des résultats variables mais cependant acceptables (Wise et coll., 1961).

4.4 Ionophores :

C'est un groupe d'antibiotiques auxquels appartiennent le monensin, le lasalocide et la virginiamicine. Ils réduisent la production de lactate et de méthane dans des études *in vivo* et *in vitro*, probablement par diminution de la population des bactéries productrices de lactate ou réduction de la taille des repas. Ils modifient aussi la fermentation ruminale en augmentant la population des bactéries productrices de propionate (Corah, 1991). Ils sont toutefois interdits dans l'union européenne depuis le 31/12/05.

4.5 Vaccins :

Ils permettent d'immuniser les animaux contre certains micro-organismes ruminiaux tels que *Streptococcus bovis* et *Lactobacillus spp.* Les anticorps sont sécrétés par les animaux dans la salive. Certaines études démontrent que ces vaccins diminuent la concentration d'acide lactique et augmentent le pH ruminal, provoquant à la fois une augmentation de l'ingestion et une diminution du risque d'acidose (Shu et coll., 1999).

4.6 Anticorps :

Des préparations d'anticorps polyclonaux ont été essayées (obtenus à partir d'oeufs de poules immunisées) contre certaines bactéries ruminales, comme alternative possible pour la supplémentation de ration pour ruminants. Les concentrations de *S. bovis* et *Fusobacterium necrophorum* ont diminué et le pH ruminal moyen quotidien a augmenté (Dilorenzo et coll., 2004). Il a aussi été observé une diminution de l'incidence des abcès hépatiques.

4.7 Sels :

Principalement NaCl et KCl. Ils ont été étudiés pour leur effet osmotique et l'augmentation du Kp du liquide ruminal qui entraîne une augmentation du taux de dilution des molécules solubles et des petites particules solides (particules d'amidon), ainsi que pour leur conséquence sur la fermentation ruminale : une augmentation du rapport acétate / propionate (Rogers et coll., 1982; Rogers et Davis, 1982b).

4.8 Tampons :

Les tampons peuvent affecter les conditions ruminales via une augmentation du pH ou une diminution des variations de pH (capacité tampon). Le tampon idéal devrait être libéré durant l'intervalle de production d'acides la plus importante, ou bien être libéré en continu pour prévenir les augmentations de la concentration de H^+ en relation avec la fermentation (Le Ruyet et Tucker, 1992).

Les bicarbonates, sous forme de sels de K ou plus généralement de Na, sont les tampons les plus utilisés en alimentation des ruminants ($pK_a = 6,25$) (Counotte et coll., 1979; Russell et Chow, 1993)

4.9 Conduite de l'alimentation, moment et fréquence des repas:

La ration est très largement considérée comme le facteur externe le plus déterminant du type de fermentation ruminale. Toutefois il faut aussi considérer que la prise alimentaire est le principal facteur perturbateur de l'équilibre microbien et biochimique du rumen. Il ne faut donc pas oublier qu'en dernier lieu la fermentation ruminale sera déterminée par la manière avec laquelle l'animal ingère cette ration c'est-à-dire par son comportement d'ingestion. En effet, si l'on travaille généralement en nutrition sur des quantités ingérées par jour, il faut prendre en compte que la même quantité peut être ingérée selon différentes combinaisons de fréquence de taille et durée des repas qui pourront aussi affecter la rumination.

Par conséquent il est permis de penser que la conduite alimentaire par ses répercussions sur le comportement d'ingestion peut diminuer les risques d'acidose. L'effet de la fréquence

d'alimentation a été envisagé par de nombreux auteurs et sera développé dans la partie expérimentale de ce travail.

PARTIE 2- ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

I Matériel et méthodes :

1. Animaux :

Quatre génisses Prim Holstein, de 14 mois (PV moyen initial de 385 ± 6 kg), ont été utilisées lors de la phase expérimentale.

Les animaux étaient pourvus de canules ruminales permanentes, en matière plastique et d'un diamètre intérieur de 1 cm (Divasa farmavic S. A., Vic, España). La chirurgie de fistulation ruminale a été réalisée plusieurs mois avant le début de l'expérience, suivant les procédures chirurgicales standard (Balch et Cowie, 1962), conduites sous anesthésie locale et dans le respect des règles d'asepsie.

Le protocole de recherche fût approuvé par le Campus Laboratory Animal Care Committee de l'Universitat Autònoma de Barcelona.

2. Modèle expérimental :

Le modèle expérimental choisi était un carré latin : 4 animaux, auxquels ont été attribués alternativement et au hasard 4 traitements durant 4 périodes (**Table 1**).

Table 1- Distribution des traitements en fonction de la période expérimentale

Période	Animal			
	2770	0514	0596	1153
1	4D	2D	1D	3D
2	2D	1D	3D	4D
3	3D	4D	2D	1D
4	1D	3D	4D	2D

1D : 1 distribution quotidienne du concentré
2D : 2 distributions quotidiennes du concentré
3D : 3 distributions quotidiennes du concentré
4D : 4 distributions quotidiennes du concentré

Chaque période expérimentale était composée de 14 jours : 7 jours d'adaptation et 7 jours de prélèvements et recueil de données.

La phase expérimentale s'est déroulée d'octobre à décembre 2004.

3. Locaux et installations :

L'expérience a pris place à l'Unitat de Granjes i Camps Experimentals de l'Universitat Autònoma de Barcelona, où les génisses étaient à l'attache, dans des logettes équipées d'un matelas de caoutchouc ainsi que d'un abreuvoir automatique.

Les mangeoires individuelles d'une contenance de 130 l étaient divisées en deux compartiments : l'un destiné à recevoir le fourrage, et l'autre le concentré. Au niveau de la zone d'alimentation, un système de cloison entre chaque mangeoire a été mis en place afin de s'assurer que chaque animal n'ait accès qu'à la ration qui lui était attribuée.

Une lumière artificielle a été maintenue 24 h sur 24, les portes de l'étable demeurant fermées. Le mur en face des animaux était pourvu d'ouvertures d'aération occupant 6,5 % de sa surface, et le mur postérieur du même type d'ouvertures sur 6,3 % de sa surface.

4. Alimentation et conduite :

La ration a été formulée grâce au programme NRC (1996) afin de combler au minimum les besoins alimentaires d'une génisse de 430 kg avec un Gain Moyen Quotidien de 1,52 kg/j.

Le concentré contenait du maïs, de l'orge et du soja comme sources principales d'énergie et de protéines (**Table 2**). L'ensemble de ses ingrédients était moulu à 3mm.

La paille d'orge était hachée afin de disposer de particules d'environ 7cm de long.

Les refus de concentré et de paille de chaque génisse étaient recueillis quotidiennement à 7h00 avant la distribution d'aliment, séparés manuellement et pesés grâce à une balance électronique.

Le concentré et la paille étaient distribués séparément dans chacun des compartiments de la mangeoire. Leur quantité en matière fraîche était 20 % supérieure à la consommation mesurée la veille, afin d'assurer un accès ad libitum au concentré comme à la paille. La paille était distribuée une seule fois par jour à 8h00. La quantité de concentré distribuée quotidiennement était divisée en parts égales selon la fréquence de distribution correspondante et répartie comme suit :

- Traitement 1D : 1 distribution quotidienne à 8h00
- Traitement 2D : 2 distributions quotidiennes à 8h00 et 20h00
- Traitement 3D : 3 distributions quotidiennes à 8h00, 14h00, et 20h00
- Traitement 4D : 4 distributions quotidiennes à 8h00, 12h00, 16h00 et 20h00

Table 2- Ingrédients et composition chimique du concentré et de la paille :

Ingrédient (% de MS)	Concentré	Paille d'orge
Maïs	30,00	
Orge	21,60	
Soja	13,00	
Fèverole	10,00	
Gluten 20%	10,00	
Pulpe de betterave déshydratée	5,00	
Co-produit de blé	4,00	
Graisse by-pass	1,80	
Suif	1,30	
Carbonate de calcium	1,30	
Bicarbonate de sodium	1,00	
Chlorure de sodium	0,50	
Phosphate bicalcique	0,10	
Additifs ¹	0,40	
Composition chimique (% de MS)		
MS (Matière Sèche)	98,2	95,9
MO ² (Matière Organique)	92,8	93,4
Cendres	7,1	6,3
MAT (Matière Azotée Totale)	18,0	3,6
NDF (Neuter Detergent Fibre)	18,2	80,6
ADF (Acid Detergent Fibre)	7,5	50,6
ADL (Acid Detergent Lignin)	0,6	5,2
EM (Mcal/kg) ³	2,92	1,45

¹ Additifs : Vit A (UI/kg) : 10000, Vit D3 (UI/kg) : 2000, Vit E (mg/kg) : 9, Cuivre (mg/kg) :10

² Matière Organique calculée comme suit : MO = MS - Cendres

³ Energie Métabolisable, estimée avec NRC (1996)

5. Recueil de données, prélèvements et analyses :

5.1 Paramètres productifs : croissance et ingestion :

Le poids vif a été déterminé grâce à une balance électronique, avant de distribuer la nourriture et après avoir retiré les refus, 2 jours consécutifs, au début et à la fin de la phase expérimentale, afin de déterminer le GMQ.

L'aliment distribué, aussi bien pour concentré que pour la paille, était collecté quotidiennement du jour 7 au jour 14 de chaque période afin de former un échantillon hebdomadaire, constitué par le mélange des prélèvements quotidiens. Il fût procédé de même pour les refus, mais de manière individuelle (un échantillon hebdomadaire par animal).

La teneur en MS (Matière sèche) de l'aliment distribué et des refus a été déterminé après séchage d'une première partie des échantillons 24 h à 103 °C dans une étuve à air pulsé (AOAC, 1990) dans l'objectif de déterminer l'ingestion journalière de MS, pour chacun des aliments (paille et concentré), et pour chaque animal.

Une autre partie des échantillons des aliments distribués a été séchée à 65°C durant 48h dans une étuve à air pulsé puis moulue avec un moulin à grains à travers un tamis de 1 mm (P.PRAT SA, Sabadell, España) et stockée avant l'analyse chimique. A partir de là ont pu être calculés les teneurs en MS (24 h à 103°C) et en cendres (4 h à 550°C). La matière azotée totale (MAT) a été déterminée par la méthode de Kjeldahl (AOAC, 1990). La Matière Organique (MO) a été calculée par la différence entre MS et cendres (AOAC, 1990). NDF, ADF et ADL ont été déterminée par la méthode de Van Soest et coll. (1991), avec l'utilisation d'une alpha-amylase thermostable et de sulfate de sodium.

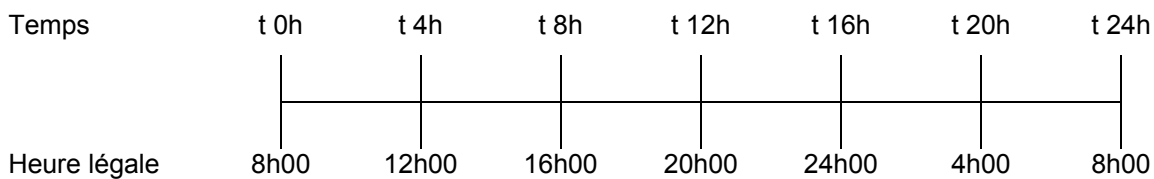
L'ingestion quotidienne de MS et de nutriments a pu être calculée par la différence entre la quantité de MS offerte et refusée et l'analyse chimique des aliments distribués.

La consommation quotidienne et individuelle d'eau était lue avec une précision de 1dl directement sur des débitmètres (B98.32.50, Invensys model 510 C, Tashia SL, Artesa de Segre, España) installés sur chaque abreuvoir automatique.

5.2 Paramètres ruminiaux :

Le jour 10 de chaque période, environ 200 ml de liquide ruminal a été prélevé dans le sac ventral du rumen, à l'aide d'une pompe à vide électrique et d'une sonde en aluminium de 90 cm percée de trous latéraux dans sa partie distale, juste avant la première distribution d'aliment, puis toutes les 4h durant 24h (**Figure 7**).

Figure 7- distribution des prélèvements de liquide ruminal au cours du jour 10 d'une période expérimentale



Le liquide ruminal a été filtré à travers 2 couches de tulle et le **pH** a été immédiatement mesuré avec un pH-mètre à électrode de verre (modèle 507, Crison Instruments SA, Barcelona, España). 2 échantillons ont été conservés :

- Pour analyse du **N NH₃** (azote ammoniacal) selon Chaney et Marbach (1962) : 4 ml du liquide filtré ont été acidifiés avec 4 ml d'acide chlorhydrique à 0,2 N, avant d'être congelés à -20°C. Les prélèvements furent par la suite décongelés et centrifugés à 25 000 x g durant 20 min et le surnageant analysé par spectrophotométrie (modèle Libra S21, Biochrom Ltd., Cambridge, UK) afin de déterminer la quantité d'azote ammoniacal.
- Pour analyse des **AGV** (Acides Gras Volatils) selon Jouany (1982) : 4 ml du liquide filtré ont été ajoutés à 1 ml de solution composée de 1% de chlorure de mercure, pour empêcher la croissance microbienne, de 2% d'acide orthophosphorique et de 0,2% d'acide 4-méthylvalérique jouant le rôle d'étalon interne ; le tout a été congelé à -20°C. Les prélèvements ont été par la suite décongelés et centrifugés à 15 000 x g durant 20 min, et dilués à 1:1 dans de l'eau distillée afin de réaliser l'analyse postérieure de chromatographie gazeuse (modèle 6890, Hewlett Packard, Palo Alto, CA). Dans le chromatographe était utilisée une colonne capillaire remplie de polyéthylène glycol traitée à l'acide nitrotéréphtalique (BP21, SGE, Europe Ltd., UK). Le flux de gaz était de 29,9 ml/min et à 275°C dans l'injecteur.

Les moyennes des données de pH, N NH₃ et AGV du liquide ruminal ont été obtenues en calculant l'aire sous la courbe des données en question, et en divisant par le temps total (Pitt et Pell, 1997). L'aire sous la courbe et le nombre d'heures passées avec un pH inférieur à 5,8 ont été calculées en supposant que les variations de pH, N NH₃ ou AGV entre deux mesures étaient linéaires.

5.3 Comportement animal :

Pour enregistrer le comportement des animaux 24h durant, un système de vidéo surveillance (TVCC System) a été installé. Une caméra numérique noir et blanc (modèle LTC 0500/50, Philips I&C, España) située à environ 3m en face des animaux était connectée à un magnétoscope haute densité (modèle RT30A, Bosch security systems, España) les cassettes vidéos enregistrées ont été stockées avant d'être analysées à l'aide d'un écran vidéo monochrome (modèle LTC 2017/51, Philips I&C, España). Le comportement animal a été enregistré en vitesse rapide, et ce durant 24h les jours 8, 10 et 12 de chaque période expérimentale (16,67 images/s sur des cassettes de type E240, soit 24h de temps réel sur des cassettes de 4h).

Les cassettes vidéo ont été analysées visuellement en faisant un "screening" à 5 min d'intervalle, c'est à dire que chaque 5 min de temps réel étaient relevées l'activité et la position de chacune des génisses. Les différentes activités utilisées s'excluent mutuellement et sont définies dans la **Table 3**. D'éventuelles stéréotypies définies par Redbo et Nodblad (1997) comme des mouvements simples répétés de la même façon de multiples fois, sans fonction dans le contexte dans lequel ils sont réalisés, ont aussi été répertoriées.

Les données de comportement animal pour chaque activité et position, sont présentées comme un pourcentage des observations totales. Ces pourcentages ont été déterminés en ajoutant le nombre d'observations de l'activité donnée divisé par le nombre total d'observations qui ont été effectuées pour chaque génisse associée à une période et un traitement (864 observations). Afin d'obtenir une distribution normale pour l'analyse statistique, on a utilisé l'arc sinus de la racine carrée de ces pourcentages (Mitlöhner et coll., 2001). Les valeurs de pourcentages présentées ultérieurement ont été calculées via la transformation inverse, et les écarts types des moyennes qui leur sont associés sont indicatifs et correspondent à la moitié de l'intervalle de confiance dont les bornes ont été calculées de la même manière.

Table 3- Définitions utilisées pour décrire la position et l'activité comportementale des animaux :

Position	Définition
Debout	Corps supporté par les quatre pattes, indépendamment d'une activité réalisée par l'animal ou de sa passivité
Couchée	Corps au sol, indépendamment d'une activité réalisée par l'animal ou de sa passivité
Comportement	
Manger du concentré	Se nourrit à la mangeoire, avec le mufle dans le concentré ou mâche ou avale de la nourriture après avoir mis le mufle dans le concentré
Manger de la paille	Se nourrit à la mangeoire, avec le mufle dans la paille ou mâche ou avale de la nourriture après avoir mis le mufle dans la paille
Boire	Mufle dans l'abreuvoir automatique
Ruminer	Mâche du contenu ruminal régurgité
Se reposer	Pas de mastication et aucune activité apparente ou dort
Interagir	Lèche une des génisses voisines ou est en contact avec le mufle
Se gratter	Lèche sans stéréotypie son propre corps ou se gratte avec une patte arrière ou contre les installations
Lécher	Lèche sans stéréotypie les installations
Observer	Est en alerte, écoutant et regardant des sons ou des mouvements
Stéréotypies orales	Roule la langue, lèche ou mord de manière stéréotypée les installations

5.4 Analyses statistiques :

La totalité des analyses statistiques a été conduite grâce au modèle d'analyse de variance utilisant le PROC MIXED du programme informatique SAS, avec l'animal et la période considérés comme facteurs aléatoires (SAS Institute, Inc., Cary, NC, version 8.2, 1999-2001).

Pour chacune des variables ont été calculées des moyennes pour chaque période, chaque génisse et chaque traitement, afin de les utiliser dans l'analyse statistique, le modèle utilisé étant :

$$Y_{ijk} = \mu + F_i + A_j + P_k + e_{ijk} \quad (1)$$

Y_{ijk} est la variable réponse analysée mesurée sur l'animal j , dans la période k et avec le traitement i (1),

μ est l'effet moyen général (1) (2) (3),

F_i est l'effet fixe de la fréquence i (1) (3),

A_j est l'effet aléatoire de l'animal j (1),

P_k est l'effet aléatoire de la période k (1),

e_{ijk} est le résidu de l'analyse : erreur aléatoire associée à l'animal j dans la période k soumis au traitement i (1).

Pour les analyses des effets linéaires, quadratiques ou cubiques de la fréquence de distribution du concentré sur la variable réponse, a été utilisée l'analyse de variance de Type I selon le modèle suivant :

$$Y_{ijkt} = \mu + \alpha F_i + \beta F_i^2 + \gamma F_i^3 + A_{jk(i)} + P_{kj(i)} + e_{ijkt} \quad (2)$$

Y_{ijkt} est la variable réponse analysée mesurée au temps t sur l'animal j , dans la période k et soumis au traitement i (2) (3),

αF_i est le terme linéaire de l'effet de la fréquence (2),

βF_i^2 est le terme quadratique de l'effet de la fréquence (2),

γF_i^3 est le terme cubique de l'effet de la fréquence (2),

$A_{jk(i)}$ est l'effet aléatoire de l'animal j dans la période k avec le traitement i (2) (3),

$P_{kj(i)}$ est l'effet aléatoire de la période k pour l'animal j avec le traitement i (2) (3),

α , β et γ sont les coefficients de régression linéaire, quadratique et cubique des traitements (2),

e_{ijkt} est le résidu de l'analyse : erreur aléatoire associée à l'animal j dans la période k soumis au traitement i au temps t (2) (3).

Pour les mesures répétées (pH ruminal, concentration en AGV, etc.) la structure de covariance la plus appropriée a été choisie en fonction du critère d'information corrigée

Akaike (AICC) et du critère d'information Schwarz's Bayesian (BIC) (SAS/STAT 9.1, guide de l'utilisateur, 2004) le modèle ayant le plus bas AICC ou BIC est le plus adaptée à l'analyse (Littell et coll., 1998; Wang et Goonewardene, 2004). Pour la plus part des variables ruminales avec des mesures répétées, les modèles Toeplitz hétérogène ou Non-structuré (SAS/STAT 9.1, guide de l'utilisateur, 2004) sont les plus adéquats car ils correspondent à un schéma circadien où le prélèvement de t 0h est plus corrélé avec celui de t 24h qu'avec n'importe quel autre. Le modèle statistique utilisé pour les mesures répétées était :

$$Y_{ijkt} = \mu + F_i + A_{jk(i)} + P_{kj(i)} + T_t + (TF)_{it} + e_{ijkt} \quad (3)$$

T_t est l'effet fixe du temps t de prélèvement (heure de prélèvement) (3),

$(TF)_{it}$ est l'effet fixe de l'interaction entre le traitement et le temps de prélèvement (3).

Pour chaque variable ont aussi été testées les différences entre les moyennes des traitements avec l'option d'ajustement Tukey du LSMEANS statement (SAS/STAT 9.1, guide de l'utilisateur, 2004). Afin de tester l'effet simple des traitements à chaque niveau des mesures répétées, ainsi que l'interaction Traitement x Temps de prélèvement, l'option SLICE de SAS a été utilisée (SAS/STAT 9.1, guide de l'utilisateur, 2004). Pour analyser des différences de moyenne entre temps de prélèvements associées à un traitement, l'option BY de SAS a été utilisée (Kendall, 1993) et, finalement, pour analyser les différences de moyennes à temps de prélèvement donné (mesures répétées) la correction de Bonferroni. Les effets ont été déclarés significatifs pour $P < 0,05$ et les tendances discutées pour $P < 0,15$.

II. Résultats et discussion :

1. Ingestion et consommation d'eau :

Les animaux sont passés, au cours des 8 semaines de phase expérimentale de 385 ± 6 kg de PV initial à 456 ± 8 kg, ce qui représente un GMQ de 1,27 kg/j qui bien que correct est inférieur l'objectif utilisé pour formuler la ration par le programme NRC (1996).

Comme indiqué sur la **Table 4**, les traitements n'ont pas eu d'effet significatif sur la quantité de matière sèche totale ingérée par jour, qui correspond à $9,79 \pm 0,33$ kg/j, pas plus que sur la quantité de paille ou de concentré. Par conséquent, la proportion fourrage:concentré n'a pas non plus été affectée par la fréquence de distribution du concentré et correspond à un rapport moyen de 10:90. Ces résultats sont en accord avec ceux observés par Sutton et coll. (1985) qui n'observèrent pas de modification de l'ingestion en passant de 2 à 6 distributions quotidiennes avec des vaches laitières, de même que Yang et Varga (1989) qui comparèrent 1, 2 et 4 distributions, eux aussi avec des vaches Holstein.

Par contre la consommation quotidienne d'eau (**Table 4**) a eu tendance ($P < 0,10$) à augmenter de manière linéaire parallèlement à l'augmentation de la fréquence de distribution du concentré, passant ainsi de 32,5 l en moyenne pour les vaches nourries une fois par jour, à 37 l en moyenne pour celles nourries 4 fois par jour, soit une augmentation de 12 %. Nocek et Braund (1985) quant à eux constatèrent que des vaches laitières nourries 8 fois par jour consomment 13 % plus d'eau que celles nourries une seule fois (toutefois sans que cette différence soit significative). En revanche Bunting et coll. (1987) observèrent pour des brebis une augmentation significative de 30 % de l'abreuvement en passant de 2 à 16 distributions quotidiennes de fourrage.

Table 4- Effets de la fréquence de distribution du concentré sur l'ingestion volontaire de matière sèche (IVMS) de paille et de concentré et la consommation journalière d'eau (CJE).

Variable	Traitement				ET	P
	1D	2D	3D	4D		
IVMS Total (kg/j)	9,94	9,71	9,79	9,71	0,73	0,626
IV Paille (kg/j)	0,93	1,01	0,96	0,97	0,19	0,907
IV Concentré (kg/j)	9,01	8,70	8,83	8,74	0,61	0,668
Paille (% ration)	9,31	10,44	9,53	9,59	1,45	0,821
CJE (l/j) ¹	32,52	34,19	36,04	37,06	4,69	0,319

¹ Tendance à un effet linéaire de la fréquence d'alimentation ($P < 0,10$)
ET = Ecart Type des moyennes

2. Paramètres ruminiaux :

2.1 pH :

Les traitements n'ont pas eu d'effet significatif que ce soit sur le pH moyen, minimum ou maximum quotidien.

Toutefois, en ce qui concerne les pH moyen et minimum, on observe une tendance à un effet cubique de la fréquence d'alimentation ($P=0,11$ et $P=0,15$, respectivement.), les valeurs de pH les plus élevées étant rencontrées pour les traitements 2D et 4D (**Table 5**). D'autre part, Soto-Navarro et coll. (2000) utilisant 9 veaux observèrent une augmentation significative de pH moyen de l'ordre de 0,18 en passant d'une à deux distributions quotidiennes. Or en ce qui nous concerne, on obtient une différence de pH entre 2D et 1D de 0,22, augmentation similaire à celles des auteurs antérieurs, sans pour autant être significative. Ceci est probablement dû à un nombre d'animaux insuffisant. Pour le pH maximum quotidien on constate une tendance à augmenter linéairement ($P<0,10$) avec l'augmentation de la fréquence de distribution du concentré (7,29 pour 1D contre 7,59 pour 4D).

Enfin, en relation directe avec les résultats obtenus pour le pH moyen, pour l'aire sous la courbe de pH (**Table 5**) on obtient une tendance à un effet cubique ($P=0,11$) lors de l'augmentation de la fréquence d'alimentation, avec encore une fois, les valeurs les plus élevées attribuées aux traitements 2D et 4D.

Table 5- Effets de la fréquence de distribution du concentré sur les pH moyen, minimum et maximum, les heures passées sous le pH de 5,8 (Heures<5,8) et l'aire sous la courbe de pH (Aire).

Variable	Traitement				ET	P
	1D	2D	3D	4D		
pH moyen ²	6,47	6,69	6,44	6,67	0,12	0,358
pH min ³	5,88	6,08	5,81	6,06	0,15	0,446
pH max ¹	7,29	7,35	7,36	7,59	0,12	0,244
Heures<5,8	0,48	0	2,76	0,83	1,17	0,433
Aire ²	155,37	160,48	154,44	159,98	2,86	0,474

¹ Tendance à un effet linéaire de la fréquence d'alimentation ($P<0,10$)

² Tendance à un effet cubique de la fréquence d'alimentation ($P=0,11$)

³ Tendance à un effet cubique de la fréquence d'alimentation ($P=0,15$)

ET = Ecart Type des moyennes

La **Figure 8** décrit les cinétiques de pH au cours de la journée de prélèvements ruminiaux. On peut noter que 12h après la première distribution de concentré (t 12h), le pH de 2D est

significativement supérieur à celui de 1D et 3D (**Table 6**), heure à laquelle le pH eut tendance ($P=0,058$) à être affecté par les traitements. Ceci coïncide avec les résultats de Soto-Navarro et coll. (2000) qui, en distribuant l'aliment 2 fois par jour et séparant les distributions de 9 heures, ont obtenu aussi un pH supérieur juste avant la seconde distribution. Par ailleurs, on a pu observer 4h après la première distribution d'aliment de la journée un pH du traitement 4D significativement supérieur à celui de 1D (**Table 6**).

Maintenant, lorsque l'on observe l'évolution du pH au cours de la journée pour un même traitement, on peut constater que (**Table 6**) :

-Dans le cas du traitement 4D, c'est à t 8h que le pH se différencie significativement de celui de 0h, alors que pour l'ensemble des autres traitements cette différence est obtenue dès t 4h. Ce résultat est en liaison directe avec celui exposé juste précédemment, et va lui aussi dans le sens d'une chute de pH moins prononcée sur la **Figure 8** lorsque l'animal est nourri 4 fois par jour. De manière similaire Kauffmann (1976) décrit une diminution des fluctuations de pH quand augmente la fréquence d'alimentation.

-Pour 2D et uniquement pour ce traitement, le pH obtenu à t 12h ne se différencie pas statistiquement de celui de t 0 et t 24h. Ce résultat est en relation sur la **Figure 8** avec une augmentation de pH à l'heure où la majorité des autres traitements atteignent leur minimum. Comme ont pu l'observer Soto-Navarro et coll. (2000).

Figure 8. Evolution quotidienne du pH ruminal en fonction de la fréquence de distribution du concentré : représentation graphique.

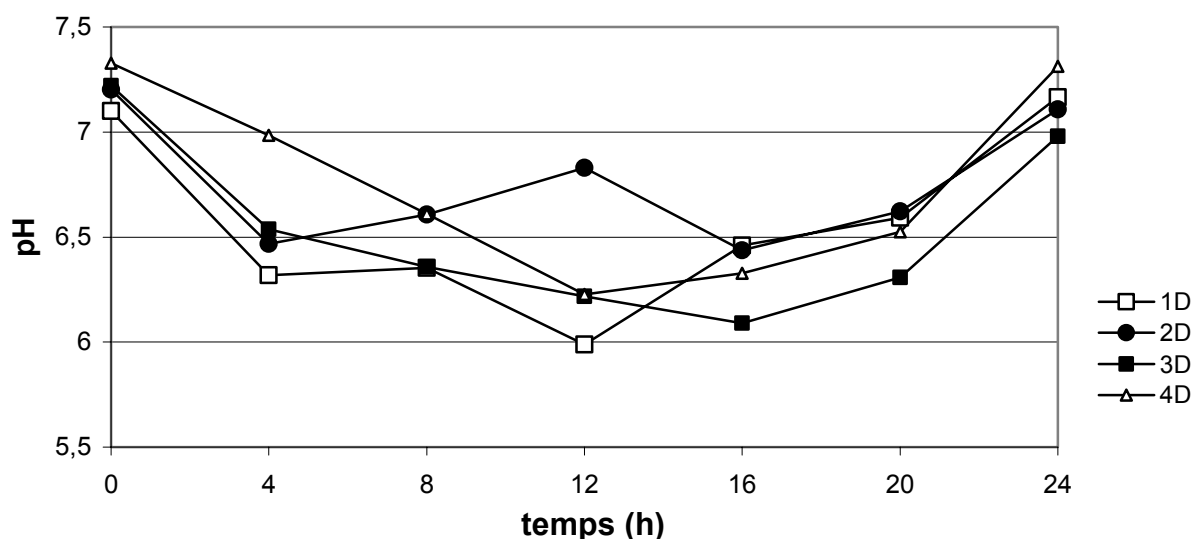


Table 6- Evolution quotidienne du pH ruminal en fonction de la fréquence de distribution du concentré : données numériques.

Temps (h)	Traitement				ET
	1D	2D	3D	4D	
0	7,10 ab	7,20 a	7,22 a	7,33 a	0,16
4	6,32 cd, x	6,47 b, xy	6,54 bc, xy	6,98 ab, y	0,24
8	6,35 cd	6,61 b	6,36 c	6,61 bc	0,23
12*	5,99 d, x	6,83 ab, y	6,22 c, x	6,23 c, xy	0,22
16	6,46 bcd	6,44 b	6,09 c	6,33 bc	0,32
20	6,59 c	6,62 b	6,31 c	6,52 bc	0,17
24	7,16 a	7,11 a	6,98 ab	7,31 a	0,13

a,b,c,d Les moyennes dans la même colonne avec une lettre différente sont différentes (P<0,05).

x,y,z Les moyennes dans la même ligne avec une lettre différente sont différentes (P<0,05).

* P=0,058: effet des traitements sur le pH à t 12h

ET = Ecart Type des moyennes

2.2 Produits de la fermentation ruminale :

Table 7- Effets de la fréquence de distribution du concentré sur la concentration d'azote ammoniacal (N NH₃), les quantités et proportions d'acides gras volatils (AGV) et le rapport acétique : propionique (C2:C3)

Variables	Traitements				ET	P
	1D	2D	3D	4D		
N NH ₃ (mg/dl) ¹	8,02 xy	7,23 x	9,32 y	8,16 xy	1,32	0,067
AGV tot (mM)	105,90	112,59	106,29	112,09	4,99	0,670
Acétique (%)	56,30	56,68	57,39	56,89	1,99	0,976
Propionique (%)	24,29	25,34	25,19	25,59	2,17	0,937
Iso-Butirique (%) ²	1,17	1,12	1,22	1,17	0,07	0,467
Butirique (%) ³	13,37	12,06	11,55	12,38	1,32	0,303
Iso-Valérique (%)	2,97	3,32	3,08	2,44	0,53	0,633
Valérique (%)	1,92 x	1,48 y	1,58 xy	1,55 xy	0,18	0,051
C2:C3	2,48	2,33	2,32	2,24	0,31	0,927

¹ Effet cubique de la fréquence d'alimentation (P=0,018)

² Tendance à un effet cubique de la fréquence d'alimentation (P<0,15)

³ Tendance à un effet quadratique de la fréquence d'alimentation (P<0,15)

x,y : Les lettres différentes dans la même ligne signifient des moyennes différentes

ET = Ecart Type des moyennes

2.2.1 Azote ammoniacal :

La **Table 7** montre que la fréquence de distribution du concentré a eu tendance à affecter la quantité d'azote ammoniacal, ce qui se traduit par un effet cubique de la fréquence d'alimentation et par une quantité de N NH₃ significativement plus faible (de 22%) pour le traitement 2D que pour le traitement 3D. En revanche, Yang et Varga (1989) ont observé, sur des vaches laitières, une diminution de la concentration d'azote ammoniacal associée à l'augmentation de la fréquence d'alimentation, en relation avec une diminution de la fluctuation de cette concentration au cours du cycle d'alimentation. Si dans notre cas de tels résultats n'ont pu être mis en évidence, on peut remarquer que c'est aussi pour le traitement qui connaît des fluctuations de pH moindres que l'on obtient la concentration de N NH₃ la plus faible.

2.2.2 Acides gras volatils :

La fréquence de distribution du concentré n'a pas entraîné de modification significative de la quantité totale d'acide gras volatils, pas plus que celle des acide gras majoritaires : acétique et propionique (**Table 7**).

De même, et consécutivement, le rapport C2/C3 (acétique/propionique) n'a pas été influencé par les traitements et a une valeur moyenne de $2,34 \pm 0,31$. Sur ce point la littérature est assez partagée :

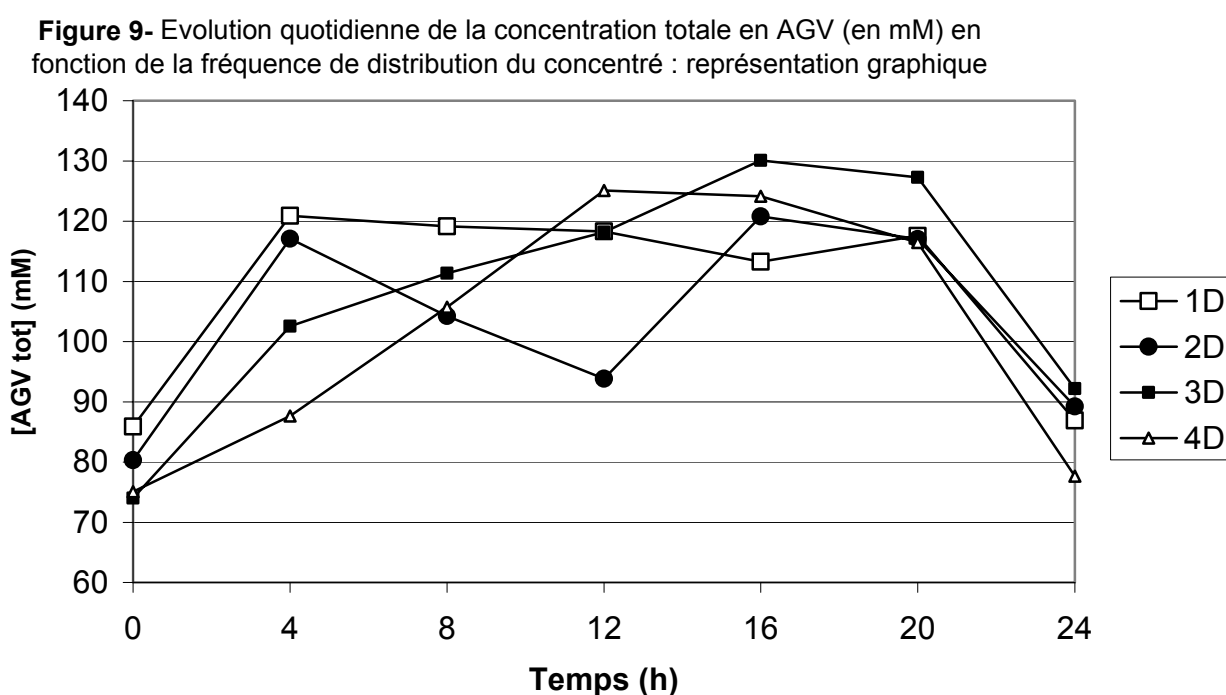
- Yang et Varga (1989) ou encore Satter et Baumgardt (1962) ne trouvèrent pas de modification du rapport C2/C3 à l'augmentation de la fréquence d'alimentation.
- Sutton et coll. (1986), Kaufmann (1976), Soto-Navarro et coll. (2000), Froetschel et Henry (1991) ont décrit une augmentation de C2/C3. On peut remarquer toutefois le fait que dans ces études que la fréquence d'alimentation était nettement plus élevée qu'en ce qui nous concerne. Kauffmann par exemple a obtenu un rapport C2/C3 inférieur à 3 pour 2 distributions quotidiennes et supérieur à 3 pour 14 distributions, ce qui reste cohérent avec les résultats que nous avons pu obtenir.

En revanche, pour ce qui est de l'acide butyrique, on a une tendance à un effet cubique du nombre de repas pour l'acide iso-butyrique et à un effet quadratique pour le butyrique. Ceci

traduit le fait que le rapport des concentrations en acide butyrique ramifié et non ramifié est le plus élevé pour 3D et le plus bas pour 1D.

On peut aussi noter que l'on a obtenu un pourcentage d'acide valérique significativement plus faible avec deux distributions quotidiennes qu'avec une seule. Sutton et coll. (1986) constatèrent eux aussi une diminution du pourcentage de valérique en passant de 2 à 6 distributions quotidiennes, sans avoir toutefois d'explication de ce phénomène.

Comme il est visible sur la **Figure 9**, on a obtenu, pour la cinétique des AGV, des courbes qui reflètent de manière très cohérente celles du pH. C'est à dire que lorsque le pH diminue, la quantité d'AGV totaux augmente, et inversement.



Ainsi, à l'opposé du pH, on a à t 4h une concentration en AGV du traitement 4D significativement inférieure à celle de 1D (**Table 9**).

Par ailleurs en observant l'évolution de ces concentrations au cours de la journée et pour un même traitement, on obtient aussi des résultats qui sont le pendant de ceux des pH (**Table 9**):

-à t 4h le seul traitement qui conduit à une concentration en AGV qui n'est pas significativement différente de celle de 0h est le traitement 4D.

-à t 12h pour 2D, et uniquement ce traitement, on a une concentration en AGV qui n'est pas significativement différente de celle de 0 ou de 24 h, ce qui correspond graphiquement (**Figure 9**) à une baisse de la quantité d'AGV à cette heure là. Soto-Navarro et coll. (2000) décrivent

des profils très similaires avec 2 pics de la concentration en AGV avec une diminution de cette concentration avant la seconde distribution d'aliment.

Table 9- Evolution quotidienne de la quantité totale d'AGV (en mM) en fonction de la fréquence de distribution du concentré : données numériques.

Temps (h)	Traitement				ET
	1D	2D	3D	4D	
0	85,9 ab	80,3 a	74,0 a	75,1 a	9,7
4	120,9 c, x	117,1 bc, xy	102,5 bc, xy	87,6 ab, y	11,3
8	119,1 bc	104,2 bc	111,4 bc	105,7 cb	9,8
12	118,3 c	93,8 ab	118,2 c	125,1 c	11,2
16	113,3 bc	120,8 c	130,1 c	124,1 c	10,0
20	117,5 bc	117,0 c	127,3 c	116,4 c	10,4
24	86,9 a	89,2 ab	92,2 ab	77,6 a	8,3

a,b,c Les moyennes dans la même colonne avec une lettre différente sont différentes ($P < 0,05$)

x,y Les moyennes dans la même ligne avec une lettre différente sont différentes ($P < 0,05$)

ET = Ecart Type des moyennes

3. Comportement animal

3.1 Proportions des différentes activités et positions sur la journée :

Table 10- Effets de la fréquence de distribution du concentré sur les pourcentages des différentes activités comportementales

Variable(%) ¹	Traitement				ET	P
	1D	2D	3D	4D		
Manger	9,84	10,05	9,93	9,90	0,83	0,989
-Fourrage	5,65	5,66	5,20	5,72	0,97	0,752
-Concentré	4,13	4,31	4,49	4,07	0,52	0,776
Boire	1,96	1,72	1,77	1,76	0,45	0,901
Ruminer	24,19	24,83	24,22	22,98	1,65	0,469
Se reposer	50,36	50,46	51,04	52,89	2,98	0,410
Interagir	3,76	3,79	3,94	4,057	1,15	0,924
Se gratter	3,61	3,66	3,48	3,30	0,87	0,352
Lécher	2,29	2,10	2,71	2,26	0,40	0,254
Observer	3,05	2,46	2,51	2,088	0,63	0,091

¹ Nb d'observation correspondant à l'activité en question sur le nombre total d'observations x 100

ET = Ecart Type des moyennes

La fréquence de distribution de l'aliment n'a pas eu d'effets sur les pourcentages de conduite comportementale durant la journée (**Table 10**).

Sur une journée les génisses ont passé en moyenne $9,93 \pm 0,37$ % du temps à manger, $1,80 \pm 0,20$ % à boire, $24,05 \pm 0,98$ % à ruminer, $12,25 \pm 0,87$ % ayant d'autres activités telles que le comportement social (interagir avec sa voisine), se gratter, lécher les installations ou observer ; enfin le reste de la journée, soit $51,19 \pm 1,36$ % du temps, est consacré au repos (cas où l'animal ne présente aucune activité, que ce soit debout ou couché).

Le pourcentage de la journée passé à manger est en accord avec les résultats décrits pour des animaux à l'engraissement (Hicks et coll., 1989 ou encore Rotger et coll., 2005) et inférieur à ceux obtenus pour des vaches en lactation (Albright, 1993). Ces différences peuvent s'expliquer par une proportion de fourrage moindre utilisée pour l'engraissement. Ainsi, dans le cas de rations riches en concentré il est courant d'observer un pourcentage de temps consacré à ruminer supérieur à celui employé à manger ce qui reflète la plus grande facilité d'ingestion des farines que des fourrages.

En général les animaux ont passé plus de temps couchés que debout (68,75 % vs. 30,46%) de telles proportions ont été observées par Jensen (1995), Wilson et coll. (1999), Mattiello et coll. (2002) et Rotger et coll. (2005) pour des animaux d'un âge inférieur néanmoins (3-4 mois).

Le temps passé debout est majoritairement consacré à manger et boire, alors que la rumination et le repos se font essentiellement en position couchée (91,56% des observations de rumination et 79,35 % des observations de repos sont associées à la position couchée), en accord avec Albright (1993) et Rotger et coll. (2005).

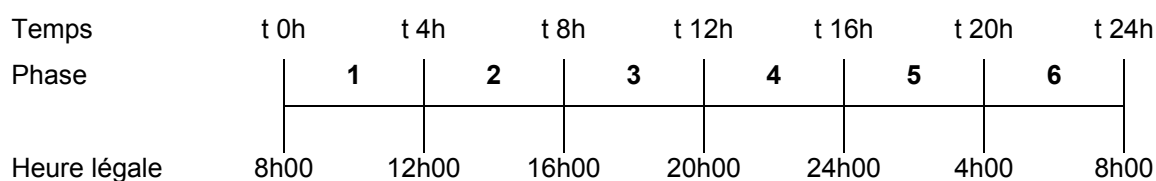
3.2 « Manger » :

Si l'on se penche plus précisément sur l'ingestion et la répartition paille/concentré, on peut noter qu'en moyenne, 56,7% du temps d'ingestion était consacré à ingérer de la paille, et 43,3% du concentré, et ce sans qu'il y ait de différences significatives entre traitements. On peut donc remarquer que les animaux passent près de 60% de leur temps d'ingestion à manger 10% de la ration en MS. Cet élément met en évidence, encore une fois, qu'aussi bien la préhension, la mastication et la formation du bol alimentaire sont beaucoup plus rapides pour le concentré que pour la paille (ce qui augmente les risques d'acidose par défaut de salivation).

3.2.1 Evolution quotidienne :

On a ensuite analysé l'évolution de ces différentes attitudes comportementales au cours de la journée. Pour cela, celle-ci a été divisée en 6 phases de 4h correspondant aux intervalles de temps entre deux prélèvements de liquide ruminal. (**Figure 10**)

Figure 10- Représentation graphique des phases de la journée :



Cela nous a donc permis, pour chaque paramètre comportemental, d'étudier l'effet de la fréquence de distribution à chaque phase de la journée. En parallèle, on a pu comparer l'évolution des pourcentages de chaque paramètre comportemental au cours de la journée pour chacune des fréquences de distribution.

Ainsi, bien qu'il n'y ait pas d'interaction significative entre le traitement et la phase de la journée en ce qui concerne le pourcentage de temps passé à manger du concentré, on peut noter une différence d'évolution entre les traitements (**Table 11**) : pour 1D on a dès la phase 5 une consommation de concentré significativement inférieure à celle enregistrée au cours de la première phase de la journée, alors que pour les autres traitements, c'est seulement lors de la phase 6 que cette diminution devient significative.

Table 11- Evolution quotidienne de l'activité « manger du concentré » (en % du nombre total d'observations) en fonction de la fréquence de distribution du concentré

Phase	Traitement								ET
	1D		2D		3D		4D		
1	8,51	a	7,02	a	6,74	a	6,47	a	1,06
2	3,89	ab	3,47	ab	4,49	ab	4,65	a	1,23
3	6,57	ab	4,09	ab	7,23	a	5,79	a	1,60
4	3,18	abc	6,82	ab	4,05	ab	3,47	ab	2,52
5	0,87	bc	2,67	ab	2,53	ab	2,54	ab	2,33
6	0.17	b	1.03	b	0.64	b	0.61	b	1.65

a,b,c Les moyennes dans la même colonne avec une lettre différente sont différentes ($P < 0,05$)
ET = Ecart Type des moyennes

En ce qui concerne la paille (**Table 12**), l'unique différence significative que l'on peut observer, est une différence d'évolution au cours de la journée. En revanche il est intéressant de noter qu'elle est l'opposé des résultats obtenus pour le concentré : à partir de la phase 5 la consommation de paille est significativement inférieure à celle enregistrée lors de la phase 1 pour l'ensemble des traitements excepté 1D, pour lequel cette différence est significative seulement à la phase 6.

Table 12- Evolution quotidienne de l'activité « manger de la paille » (en %) en fonction de la fréquence de distribution du concentré

Phase	Traitement				ET
	1D	2D	3D	4D	
1	11,05 a	10,79 a	12,47 a	14,06 a	2,56
2	4,04 ab	5,57 ab	7,86 a	5,48 ab	2,16
3	10,37 a	9,12 a	6,26 ab	8,76 a	2,18
4	4,11 ab	5,11 ab	2,22 abc	3,90 abc	2,60
5	2,95 ab	1,82 b	1,08 bc	0,64 bc	1,17
6	0,22 b	0,25 b	0,04 c	0,17 c	1,02

a,b,c Les moyennes dans la même colonne avec une lettre différente sont différentes ($P < 0,05$)
ET = Ecart Type des moyennes

Ces résultats nous invitent à penser qu'en augmentant la fréquence de distribution du concentré, les génisses ont eu tendance à répartir leur ingestion sur la journée, et ce au détriment de l'ingestion de paille, en particulier pendant les dernières phases de la journée.

On a ensuite analysé l'évolution au cours de la journée et pour les différents traitements du rapport « manger de la paille » / « manger » (correspondant en fait au pourcentage de temps consacré à l'ingestion de paille). On peut noter dans la **Table 13** qu'à la phase 5 la fréquence de distribution du concentré a tendance ($P = 0,058$) à affecter ce rapport, ce qui se traduit par une différence significative entre les traitements 1D d'une part et 3D et 4D de l'autre, avec 73% des moments d'ingestion associés à la paille contre 31 et 25 %, respectivement. Numériquement, on peut noter que si pour 1D ce rapport a tendance à augmenter au cours de la journée, pour 3D et 4D au contraire, il a tendance à diminuer. Enfin, 2D a lui un rapport plus stable au cours de la journée.

Table 13- Evolution quotidienne du rapport : « manger de la paille » / « manger » en fonction de la fréquence de distribution du concentré

Phase	Traitement				ET
	1D	2D	3D	4D	
1	0,55	0,59	0,64	0,67	0,07
2	0,49	0,59	0,61	0,51	0,11
3	0,61	0,69	0,46	0,57	0,07
4	0,60	0,41	0,36	0,54	0,11
5*	0,73 x	0,42 xy	0,31 y	0,25 y	0,13
6	0,71	0,50	0,33	0,44	0,23

x,y Les moyennes dans la même ligne avec une lettre différente sont différentes (P<0,05)

ET = Ecart Type des moyennes

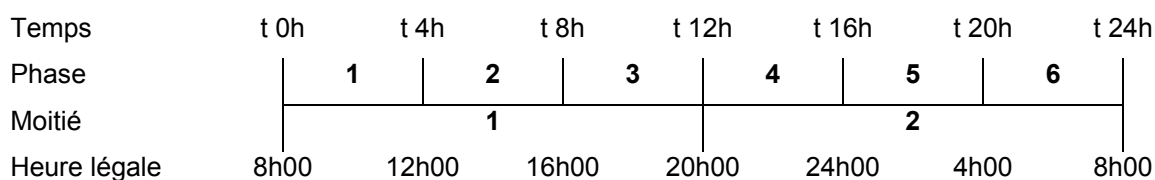
Ceci vient appuyer l'idée que l'augmentation de la fréquence de distribution du concentré implique une répartition plus homogène de son ingestion au cours de la journée.

Toutefois, il faut remarquer que ces différences entre traitements ne sont significatives qu'à des phases de la journée où les activités d'ingestion que ce soit de paille ou de concentré sont très minoritaires par rapport au repos ou à la rumination (environ les $\frac{3}{4}$ des activités d'ingestion ont été enregistrées lors des 3 premières phases de la journée) ; la portée de ces résultats est donc à modérer.

3.2.2 Comparaison entre les deux moitiés de la journée :

Afin de rendre plus synthétique et plus claire (bien que moins précise) l'étude des différentes activités comportementales au cours de la journée, on a regroupé les 3 premières phases du jour en ce qui sera nommé à posteriori la moitié 1, et les trois dernières constitueront la moitié 2. (**Figure 11**)

Figure11- Représentation graphique des moitiés de la journée :



Ainsi, on peut constater dans la **Table 14** que pour 1D et 2D la consommation de paille ne varie pas de manière significative d'une moitié à l'autre, alors que pour 3D et 4D on a une diminution de la consommation en passant de la moitié 1 à la moitié 2.

Table 14- Evolution de l'activité « manger de la paille » (en % du nombre d'observations total) en fonction de la fréquence de distribution du concentré d'une moitié de la journée à l'autre

Moitié	Traitement				ET
	1D	2D	3D	4D	
1	8,59 a	8,59 a	8,92 a	9,54 a	1,73
2	2,65 a	2,48 a	1,36 b	1,70 b	0,68

a,b Les moyennes dans la même colonne avec une lettre différente sont différentes (P<0,05)
ET = Ecart Type des moyennes

Pour le concentré, seul 1D voit sa consommation diminuer significativement d'une moitié à l'autre de la journée (**Table 15**).

Table 15- Evolution de l'activité « manger du concentré » (en %) en fonction de la fréquence de distribution du concentré d'une moitié de la journée à l'autre

Moitié	Traitement				ET
	1D	2D	3D	4D	
1	6,38 a	4,88 a	6,20 a	5,67 a	0,92
2	1,78 b	3,70 a	2,57 a	2,38 a	0,98

a,b Les moyennes dans la même colonne avec une lettre différente sont différentes (P<0,05)
ET = Ecart Type des moyennes

Ces résultats expliquent ceux obtenus pour l'activité « manger » en général (**Table 16**), pour laquelle 2D est le seul traitement qui ne connaît pas de diminution significative de cette activité d'une moitié de la journée à l'autre. Sachant que sur l'ensemble de la journée il n'y a pas de différence significative entre traitements concernant cette activité (**Table 10**), on peut donc dire que dans le cas de 2D on a une distribution de l'activité plus homogène au cours de la journée. Ces données pourraient constituer un élément d'explication des valeurs de pH plus stables observées pour ce traitement.

Table 16- Evolution de l'activité « manger » (en %) en fonction de la fréquence de distribution du concentré d'une moitié de la journée à l'autre

Moitié	Traitement				ET
	1D	2D	3D	4D	
1	15,04 a	13,61 a	15,47 a	15,55 a	1,02
2	4,54 b	6,31 a	4,10 b	4,18 b	1,13

a,b Les moyennes dans la même colonne avec une lettre différente sont différentes (P<0,05)
ET = Ecart Type des moyennes

3.3 « Ruminer » :

3.3.1 Evolution quotidienne :

En ce qui concerne l'activité de rumination, on peut noter sur la **Table 17** qu'à la phase 3, soit entre t 8h et t 12h, avec 2D on a un pourcentage de rumination significativement supérieur à celui de 1D. On peut rappeler que cette phase correspond à une montée de pH uniquement pour le traitement 2D, résultat qui pourrait être en partie expliqué par le fait que les animaux alimentés en concentré deux fois par jour ont eu tendance, après la première distribution à consacrer plus de temps à ruminer que les autres et, numériquement, moins de temps à manger du concentré.

Table 17- Evolution quotidienne de l'activité « Ruminer » (en %) en fonction de la fréquence de distribution du concentré

Phase	Traitement				ET
	1D	2D	3D	4D	
1	15,16 a	15,16 a	15,94 a	18,01 a	3,84
2	22,88 ab	25,26 ab	22,18 ab	21,88 ab	2,20
3	13,42 a, x	22,82 ab, y	20,43 ab, xy	17,87 ab, xy	3,72
4	26,46 ab	20,07 ab	24,41 ab	20,07 ab	7,49
5	29,57 b	26,51 ab	29,79 b	23,30 ab	3,28
6	36,13 b	36,81 b	31,71 ab	35,43 b	5,45

a,b,c Les moyennes dans la même colonne avec une lettre différente sont différentes (P<0,05)

x,y Les moyennes dans la même ligne avec une lettre différente sont différentes (P<0,05)

ET = Ecart Type des moyennes

3.3.2 Comparaison entre les deux moitiés de la journée :

Il est intéressant de noter sur la **Table 18** qu'uniquement pour le traitement 1D on a une augmentation significative de l'activité de rumination d'une moitié à l'autre de la journée. Là encore, étant donné que sur la journée on n'a pas de différence concernant cette activité (**Table 10**), on peut donc dire que 2D, 3D et 4D ont une répartition plus homogène de l'activité de rumination au cours de la journée que 1D.

Table 18- Evolution de l'activité « ruminer » (en %) en fonction de la fréquence de distribution du concentré d'une moitié de la journée à l'autre

Moitié	Traitement				ET
	1D	2D	3D	4D	
1	17,34 a	21,57 a	19,63 a	19,40 a	2,16
2	30,82 b	27,97 a	28,73 a	26,44 a	3,02

a,b Les moyennes dans la même colonne avec une lettre différente sont différentes (P<0,05)
ET = Ecart Type des moyennes

3.4 « Se reposer » :

3.4.1 Evolution quotidienne :

Lors de la phase 5 (**Table 19**), on constate pour le traitement 4D un pourcentage de l'activité de repos significativement supérieur à celui du traitement 1D. Ce résultat est du à celui tout à fait similaire de l'activité de repos en position couché (résultat non présenté), ce qui est cohérent puisque 79,5% de l'activité de repos a été enregistrée en position couché.

Table 19- Evolution quotidienne de l'activité « Se reposer » (en %) en fonction de la fréquence de distribution du concentré

Phase	Traitement				ET
	1D	2D	3D	4D	
1	49,22 a	47,39 a	48,62 a	44,15 a	8,18
2	55,23 a	51,57 a	50,88 a	54,98 ab	4,35
3	42,43 a	40,59 a	39,97 a	42,75 ab	7,80
4	50,51 a	54,35 a	55,21 a	56,16 ab	3,02
5	52,80 a, x	57,21 a, xy	54,69 a, xy	63,99 b, y	4,68
6	51,83 a	51,45 a	56,79 a	54,96 ab	4,92

a,b Les moyennes dans la même colonne avec une lettre différente sont différentes (P<0,05)

x,y Les moyennes dans la même ligne avec une lettre différente sont différentes (P<0,05)

ET = Ecart Type des moyennes

3.4.2 Comparaison entre les deux moitiés de la journée :

Ceci se confirme lorsque l'on compare les deux moitiés de la journée : seul 4D voit son activité de repos augmenter (**Table 20**).

Table 20- Evolution de l'activité « se reposer » (en %) en fonction de la fréquence de distribution du concentré d'une moitié de la journée à l'autre

Moitié	Traitement				ET
	1D	2D	3D	4D	
1	48,98 a	46,55 a	46,45 a	47,36 a	4,13
2	51,71 a	54,33 a	55,55 a	58,35 b	3,43

a,b Les moyennes dans la même colonne avec une lettre différente sont différentes ($P < 0,05$)
ET = Ecart Type des moyennes

III Discussion générale :

Il est important de noter qu'en aucun cas on n'a été face à des animaux en situation d'acidose, et ce quelque soit le traitement : les pH sont restés relativement élevés pour l'ensemble des fréquences d'alimentation et le nombre d'heures passées par jour sous le pH de 5,8 (moins de 3h) est loin de correspondre à des valeurs d'acidose ruminale, qu'elle soit aiguë ou chronique.

L'explication de ce phénomène réside très probablement dans le fait que les animaux étaient à l'attache, avec une conduite de l'alimentation très régulière et des temps d'adaptation suffisants. Les conditions expérimentales sont en cela différentes des conditions réelles d'engraissement, mais il est intéressant de remarquer que dans de telles conditions, en l'absence de compétition et de stress, les animaux sont capables de réguler leur ingestion en l'étalant sur la journée, évitant ainsi les situations d'acidose, malgré une proportion paille : concentré de 10 : 90.

Il aurait peut-être été judicieux de rendre la ration plus acidogène en éliminant le bicarbonate et/ou en modifiant sa composition.

En définitive, si l'on a pu constater une tendance à un effet positif de l'augmentation de la fréquence de distribution du concentré par rapport au risque d'acidose du rumen, on ne peut parler que de bénéfice par rapport au risque de la maladie et non par rapport à la maladie elle-même. De plus les différences restent minimales et peu significatives. Ceci est certainement dû à plusieurs facteurs :

- Le nombre d'animaux et/ou de jours de prélèvements étaient certainement trop faibles (ainsi dans de nombreux cas on a pu mettre en évidence des différences numériques très proches de celles constatées par d'autres auteurs, sans pour autant avoir la même signification statistique).
- Les animaux étant en contact les uns avec les autres, il est probable que les influences mutuelles aient pu atténuer l'effet des traitements : lorsqu'un animal se lève pour manger par exemple, il est probable que son voisin ait tendance à l'imiter.
- L'absence de compétition et de stress due aux conditions expérimentales (cf supra).

Face à ces résultats on est aussi amené à se demander pourquoi 2D semble avoir eu plus d'effets que 3D et 4D. Il est possible que le protocole soit en cause : le concentré était

distribué ad libitum de telle manière que les animaux en consommaient environ 80 %, et était divisé en parts égales. Par conséquent pour 3D étaient distribués dès 14h 66 % du concentré distribué quotidiennement, et pour 4D 75 % dès 16h. En revanche pour 2D la moitié du concentré n'était disponible qu'à partir de 20h. Il s'agit donc du traitement qui du le plus contraindre les animaux à fractionner leur ingestion, d'où des effets plus visibles expérimentalement.

Partager la quantité de concentré distribuée quotidiennement proportionnellement au temps pour l'ensemble des traitements (alors que ça n'a été réalisé que pour 1D et 2D) aurait certainement permis de plus contraindre les animaux à modifier leur comportement d'ingestion :

- 1D : 100 % du concentré à 8h00
- 2D : 50 % du concentré à 8h00 et 50 % à 20h00
- 3D : 25 % du concentré à 8h00, 25 % à 14h00 et 50 % à 20h00
- 4D : 16,6 % du concentré à 8h00, 16,6 % à 12h00, 16,6 % à 16h00 et 50 % à 20h00.

IV CONCLUSION :

En définitive, ce travail permet de dire, dans les limites expérimentales (pas de situation d'acidose rencontrée, peu de différences entre traitements), que le fait de passer de 1 à 2 ou 4 distributions quotidiennes d'aliment permettrait de diminuer le risque d'acidose ruminale sans diminuer le niveau d'ingestion. En effet dans le premier cas le pH augmente au milieu du cycle quotidien d'alimentation, au moment où il est en général au niveau le plus bas et, dans le deuxième cas, la chute de pH post-prandiale est atténuée.

Au niveau comportemental, plutôt que de mettre en évidence des différences entre fréquences d'alimentation, le travail trouve son intérêt dans le calcul des pourcentages de temps que des animaux en engraissement consacrent aux différentes activités au cours de la journée : environ 50 % du temps à se reposer, 24 % à ruminer, 10 % à manger, et moins de 2 % à boire.

Ces résultats seront prochainement complétés par des données d'ingestion en semi-continu sur la journée (grâce à un système de balances sous les mangeoires couplées à un ordinateur, permettant une mesure de poids individuelle chaque 5 min) qui pourrait permettre de compléter les résultats obtenus et en particulier d'expliquer les évolutions de pH observées.

BIBLIOGRAPHIE

Albright J. L.. 1993. Feeding behavior of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 76:485-498.

A.O.A.C.. 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.

Asanuma N., Hino T.. 2000. Activity and properties of fumarate reductase in ruminal bacteria. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 46(3):119-125.

Balch C. C., Cowie A. T.. 1962. Permanent rumen fistulae in cattle. *Cornell Vet.* 52:206-214.

Bermúdez J. H.. 2002. Publié dans: Alonso Díez A. J., González Montaña J. R., Rejas López J.. Congreso de la Sociedad Española de Medicina Interna Veterinaria [cd-rom]. León: Universidad de León, 2002; pp. 96-102. ISBN 84-7719-810-1.

Brent B. E.. 1976. Relationship of acidosis to other feedlot ailments. *J. Anim. Sci.* 43:930-935.

Brugere H.. 1983. Biochimie du rumen – Aspects physiologiques. *Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires.* 3:5-22.

Brugere-Picoux J.. 1983. Biochimie du rumen – Aspects pathologiques. *Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires.* 3:27-50.

Bunting L. D., Howard M. D., Muntifering R. B., Dawson K. A., Boling J. A.. 1987. Effect of feeding frequency on forage fiber and nitrogen utilization in sheep. *J. Anim. Sci.* 1987. 64:1170-1177.

Calsamiglia S., Ferret A., Devant M.. 2002. Effects of pH fluctuations on microbial fermentation and nutrient flow from a dual-flow continuous culture system. *J. Dairy Sci.* 85:574-579.

Cardozo P. W., Calsamiglia S., Ferret A.. 2002. Effects of pH on microbial fermentation in high concentrate diets in a dual flow continuous culture system. *J. Dairy Sci. (Suppl. 1).* 182.

Cerrato M.. 2004. Efecto del tiempo a pH sub-óptimo sobre la fermentación microbiana ruminal y el flujo de nutrientes en un sistema de doble flujo continuo. M. Sci. Thesis, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, España.

Chaney A. L., Marbach E. P. 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. Clin. Chem. 8:130-132.

Corah L. R. 1991. Polyether ionophores: effect on rumen function in feedlot cattle. Vet. Clin. North Am. Food Anim Pract. 7:127-132.

Counotte G. H. M., Van't Klooster A. T., van der Kuilen J., Prins R. A. 1979. An analysis of the buffer system in the rumen of dairy cattle. J. Anim. Sci. 49:1536-1544.

DiLorenzo N., Dahlen C. R., DiCostanzo A. 2004. Modification of rumen bacterial populations for enhanced performance and health. Proc. 65th Minnesota Nutrition Conference. St. Paul, MN. 172-185.

Dunn B.H., Emerick R. J., Embry L. B. 1979. Sodium Bentonite and Sodium Bicarbonate in High-Concentrate Diets for Lambs and Steers. J. Anim. Sci. 48:764.

Elam C. J. 1976. Acidosis in feedlot cattle: practical observations. J. Anim. Sci. 43:898-901.

F.A.O.STAT. 2003 en: <http://apps.fao.org/page/collections?subset=agriculture>.

Froetschel M. A., Henry E. A. 1991. Effects of dietary fiber and feeding frequency on ruminal fermentation, digesta water-holding capacity, and fractional turnover of contents. J. Anim. Sci. 69:1312-1321.

Galyean M. L., Eng K. S. 1998. Application of research findings and summary of research needs: Bud Britton Memorial Symposium on Metabolic Disorders of Feedlot Cattle. J. Anim. Sci. 76:323-327.

Gaste F. 1988. La mesure du pH ruminal des bovins, une nouvelle méthode. Thèse Vétérinaire Nantes.

Ghorbani G. R., Morgavi D. P., Beauchemin K. A., Leedle J. A. Z. Effects of bacterial direct-fed microbials on ruminal fermentation, blood variables, and the microbial populations of feedlot cattle. J. Anim. Sci. 2002. 80:1977-1986.

Gouet Ph. 1986. Le fermenteur du rumen : établissement et fonctions de l'écosystème microbien. Société Française de Buïatrie : Approche nouvelle de la pathologie du réticulo-rumen. 49-65.

Hicks R. B., Owen F. N., Gill D. R. 1989. Behavioral patterns of feedlot steers. Oklahoma Agricultural Experiment Station MP 127. Stillwater, Oklahoma.

Huber T. L. 1976. Physiological effects of acidosis on feedlot cattle. 1976. J. Anim. Sci. 43:902-909.

Huntington G. B.. 1988. The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition, D.C. Church Editor. 474-480.

Jensen M. B.. 1995. The effect of age at tethering on behavior of heifer calves. Appl. Anim. Behaviour Sci. 43:227-238.

Jouany J. P.. 1982. Volatile fatty acid and alcohol determination in digestive contents, silage juices, bacterial cultures and anaerobic fermentor contents. Sci. Aliment. 2:131-144.

Kaufmann W.. 1976. Influence of the composition of the ration and the feeding frequency on pH-regulation in the rumen and on feed intake in ruminants. Livestock Prod. Sci. 3:103-114.

Kendall J. A.. 1993. Strategies for performing multiples comparisons of means. SAS Technical Support Document 282. SUGI 18^o Annual SAS Users Conference. 1283-1289.

Krehbiel C.R., Rust S.R., Zhang G., Gilliland S.E.. 2003. Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action. J. Anim. Sci. 81(E. Suppl.2):E120-E132.

Le Ruyet P., Tucker W. B.. 1992. Ruminal buffers: temporal effects on buffering capacity and pH of ruminal fluid from cows fed a high concentrate diet. J. Dairy Sci. 75(4):1069-77.

Libro Blanco de la agricultura y el desarrollo rural. 2003. Cap. 12. Vacuno de carne. MAPA.

Littell R. C., Henry P. R., Ammerman C. B.. 1998. Statistical Analysis of Repeated Measures Data Using SAS Procedures. J. Anim. Sci. 76:1216-1231.

M.A.P.A.. 2004. Estadísticas Ministerio de agricultura, pesca y alimentación. En: www.mapya.es/es/ganaderia/pags/hechosycifras.

Mattiello S., Canali E., Ferrante V., Caniatti M., Gottardo F., Gozzi G., Andrighetto I., Verga M.. 2002. The provision of solid feeds to veal calves: II. Behavior, physiology, and abomasal damage. J. Anim. Sci. 80:367-375.

Mitlöhner F. M., Morrow-Tesch J. L., Wilson S. C., Dailey J. W., McGlone J. J.. 2001. Behavior sampling techniques for feedlot cattle. J. Anim. Sci. 79:1189-1193.

McGinn S. M., Beauchemin K. A., Coates T., Colombatto D.. 2004. Methane emissions from beef cattle: Effects of monensin, sunflower oil, enzymes, yeast, and fumaric acid. J. Anim. Sci. 82:3346-3356.

Nocek J. E., Braund D. G.. 1985. Effect of feeding frequency on diurnal dry matter and water consumption, liquid dilution rate and milk yield in first lactation. J. Dairy Sci. 68:2238.

N.R.C.. 1996. Nutrients requirements of beef cattle. 7th ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.

Ørskov E. R.. 1992. Protein nutrition in ruminants. Academic Press Limited. 24-28 Oval Road, London NW1 7DX, UK.

Owens F. N., Secrist D. S., Hill W. J., Gill D. R.. 1998. Acidosis in Cattle: A Review. *J. Anim. Sci.* 76:275–286.

Pitt R. E., Pell A. N.. 1997. Modelling ruminal pH fluctuations: Interactions between meal frequency and digestion rate. *J. Dairy Sci.* 80:2429-2441.

Quigley J. D., III, Wallis L. B., Dowlen H. H., Heitmann R. N.. 1992. Sodium bicarbonate and yeast culture effects on ruminal fermentation, growth, and intake in dairy calves. *J. Dairy Sci.* 75:3531-3538.

Rebdo I., Nordlab A.. 1997. Stereotypies in heifers are affected by feeding regime. *Appl. Anim. Behaviour Sci.* 53:193-202.

Rogers J. A., Davis C. L., Clark J. H.. 1982. Alteration of rumen fermentation, milk fat synthesis, and nutrient utilization with mineral salts in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 65:577-586.

Rogers J. A., Davis C. L.. 1982b. Effects of intraruminal infusions of mineral salts on volatile fatty acid production in steers fed high-grain and high-roughage diets. *J. Dairy Sci.* 65:953-962.

Rotger A.. 2005. Fermentación ruminal, degradación proteica y sincronización energía-proteína en terneras en cebo intensivo. M. Sci. Thesis, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, España.

Russell J. R., Chow J. M.. 1993. Another theory for the action of ruminal buffer salts: decreased starch fermentation and propionate production. *J. Anim. Sci.* 75:1069-1077.

SAS/STAT 9.1, User's Guide, SAS Institute Inc. 2004. Cary, NC, USA.

Soto-Navarro S. A., Krehbiel C. R., Duff G. C., Galyean M. L., Brown M. S., Steiner R. L.. 2000. Influence of feed intake fluctuation and frequency of feeding on nutrient digestion, digesta kinetics, and ruminal fermentation profiles in limit-fed steers. *J. Anim. Sci.* 78:2215-2222.

Shu Q., Gill H. S., Hennessy D. W., Leng R. A., Bird S. H., Rowe J. B.. 1999. Immunisation against lactic acidosis in cattle. *Res. Vet. Sci.* 67:65-71.

Slyter L. L.. 1976. Influence of acidosis on rumen function. *J. Anim. Sci.* 43:910-929.

Smith R. A.. 1998. Impact of disease on feedlot performance. A review. J. Anim. Sci. 76:272-274.

Soto-Cruz O., Favela-Torres E., Saucedo-Castañeda G.. 2002. Modeling of Growth, Lactate Consumption, and Volatile Fatty Acid Production by *Megasphaera elsdenii* Cultivated in Minimal and Complex Media. Biotechnol. Prog. 18:193-200.

Satter L.D., Baumgardt B.R.. 1962. Changes in digestive physiology of the bovine associated with various feeding frequencies. J. Anim. Sci. 21:897-900.

Stedman T. L.. 1982. Stedman's Medical dictionary. Williams and Wilkins, Baltimore, MD.

Sutton J. D., Broster W. H., Napper D. J., Siviter J. W.. 1985. Feeding frequency for lactating cows: effects on digestion, milk production and energy utilization. Br. J. Nutr. 53:117-130.

Sutton J. D., Hart I. C., Broster W. H., Elliott R. J., Schuller E.. 1986. Feeding frequency for lactating cows: effects on rumen fermentation and blood metabolites and hormones. Br. J. Nutr. 56:181-192.

Uhart B. A., Carroll F. D.. 1967. Acidosis in beef steers. J. Anim. Sci. 26:1195-1198.

Van Soest P. J.. 1982. Nutritional ecology of the ruminant animal. Cornell University Press, Ithaca, New York.

Van Soest P.J., Robertson J. B., Lewis B.A.. 1991. Methods for dietary fibre, neutral fibre and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74:3588-3597.

Veth M. J., Kolver E. S.. 2001a. Digestion of ryegrass pasture in response to change in pH in continuous culture. J. Dairy Sci. 71:725-737.

Wang Z., Goonewardene L. A.. 2004. The use of mixed models in the analysis of animal experiments with repeated measures data. Can. J. Anim. Sci. 84:1-11.

Williams P. E., Tait C. A., Innes G. M., Newbold C. J.. 1991. Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers. J. Anim. Sci. 69:3016-3026.

Wise B. M., Blumer T. N., Matrone G., Barrick E. R.. 1961. Investigations on the feeding of all-concentrate rations to beef cattle. J. Anim. Sci. 20:561.

Yang C.-M. J., Varga G. A.. 1989. Effect of three concentrate feeding frequencies on rumen protozoa, rumen digesta kinetics, and milk yield in dairy cows. J. Dairy Sci. 72:950-957.

Toulouse, 2005

NOM : ROBLES

PRENOM : Vincent

TITRE : Effets de la fréquence de distribution de l'aliment sur l'ingestion, le comportement d'ingestion, et la fermentation ruminale chez des génisses en engraissement intensif.

RESUME : Un carré latin 4x4 est réalisé avec 4 Holsteins à qui le concentré ad libitum a été distribué 1, 2, 3 et 4 fois par jour (traitements 1D, 2D, 3D et 4D) afin de déterminer les effets de l'augmentation de la fréquence d'alimentation. L'ingestion totale et la proportion fourrage:concentré n'ont pas été influencées par les traitements. Les traitements n'ont pas eu d'effet significatif sur le pH moyen, minimum ou maximum quotidien. À t 12h le pH a été affecté par les traitements (pH 2D > pH 1D et 3D). La quantité totale d'AGV et les proportions d'AGV majoritaires n'ont pas été influencées par les traitements. La fréquence d'alimentation n'a pas eu d'effet sur les pourcentages de conduite comportementale durant la journée. Pour 2D on a observé une distribution de l'activité « Manger » plus homogène au cours de la journée. Entre t 8h et t 12h, le pourcentage de rumination de 2D était supérieur à celui de 1D. Passer de 1 à 2 distributions quotidiennes semble donc diminuer le risque d'acidose.

MOTS-CLES : Fréquence d'alimentation – Fermentation ruminale – Comportement - Bovins

ENGLISH TITLE : Effects of feed distribution frequency on intake, intake behavior and ruminal fermentation in finishing beef heifers.

ABSTRACT : 4 rumen fistulated Holstein heifers (385 ± 6 Kg initial BW) were used in a 4 x 4 Latin square design to determine the effects of increasing feeding frequency. Animals were fed ad libitum with concentrate and barley straw 1, 2, 3 and 4 times/day (1D, 2D, 3D, and 4D treatments). Barley straw to concentrate ratio and total DMI (Dry Matter Intake) were not affected by treatments. Daily mean, lowest and highest pH were not significantly affected by feeding frequency. At any sampling time, pH was not affected by treatments except at t 12h, due to the higher pH for the treatment 2D. Total VFA concentration and main VFA ratios were not affected by treatments. Feeding frequency did not affect daily animal behavior ratios. For 2D treatment "Eating" activity was more homogeneously distributed during the day than for other treatments. 2D ruminating ratio between t 8h and t 12h was higher than 1D one. Increasing the feeding frequency at twice a day should reduce the risk of ruminal acidosis.

KEY WORDS: Feeding frequency – Ruminal fermentation – Behavior - Cattle